

Universidade do Minho
Escola de Ciências

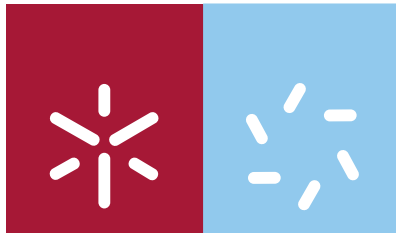
Ana Carolina Machado Suárez **Síntese de novos aminoácidos não naturais a partir de desidroaminoácidos.**

UMinho | 2011

Ana Carolina Machado Suárez

**Síntese de novos aminoácidos não naturais
a partir de desidroaminoácidos.**

Outubro de 2011



Universidade do Minho

Escola de Ciências

Ana Carolina Machado Suárez

**Síntese de novos aminoácidos não naturais
a partir de desidroaminoácidos.**

Dissertação de Mestrado em Química Medicinal

Trabalho efetuado sob a orientação do
Professor Luís Miguel Oliveira Sieuve Monteiro

Outubro de 2011

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA DISSERTAÇÃO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE;

Universidade do Minho, ____/____/____

Assinatura: _____

Agradecimentos

Este trabalho foi o culminar de mais uma etapa académica que não seria possível sem o suporte de várias pessoas.

O meu mais sincero agradecimento ao Doutor Luís Monteiro pela oportunidade em realizar este trabalho, pela sua orientação, ensinamento, disponibilidade e imenso apoio. Muito obrigada!

Agradeço aos meus colegas de Mestrado pelo companheirismo e em especial às meninas do Laboratório, Goreti, Helena e Carla, pela ajuda, simpatia, amizade e momentos muito agradáveis no laboratório.

Impossível de esquecer, tenho que agradecer à minha família sempre presente, pelo apoio, compreensão e incentivo ao longo destes dois anos de Mestrado, principalmente nestes últimos meses de escrita; é sem dúvida aos meus pais a quem devo aquilo que sou hoje.

Agradeço também a todos os meus amigos que por acreditarem em mim sempre me apoiaram, pelo carinho, pela amizade e pelos momentos de distração.

À Dra. Elisa e Dra. Vânia pela disponibilidade e profissionalismo na realização dos espectros de RMN e análise elementar.

À Universidade do Minho, em especial ao Departamento de Química, pelas condições de acolhimento proporcionadas para a realização deste trabalho.

Resumo

Descreve-se a síntese de novos aminoácidos não naturais, mais concretamente derivados de *N*-etil-desidroaminoácidos, a partir de derivados de β -hidroxiaminoácidos, usando metodologias de desidratação e de *N*-alquilação previamente estabelecidas. Estes aminoácidos não-naturais incorporam, simultaneamente, as características de *N*-alquilaminoácidos e de desidroaminoácidos, e poderão ser aplicados na síntese de péptidos com possível acção farmacológica.

Inicialmente, prepararam-se esteres metílicos de *N*-(4-nitrobenzenesulfonil), *N*-etil-desidroaminoácidos, a partir de esteres metílicos de *N*-(4-nitrobenzenesulfonil), β -hidroxiaminoácidos (serina, treonina e β -hidroxifenilalanina) por uma sequência de desidratação (*tert*-butilpirocarbonato e *N,N*-dimetilaminopiridina) e *N*-etilação (tetrafluoroborato de trietiloxónio e *N,N*-diisopropiletilamina).

Posteriormente, sintetizou-se *N*-etil-desidroaminoácidos β -halogenados com diferentes grupos protectores da função amina. Para isso, prepararam-se derivados de desidroaminoácidos a partir de β -hidroxiaminoácidos *N*-protegidos com grupos uretano, acilo e sulfonilo. Estes *N*-acil-desidroaminoácidos fizeram-se reagir com *N*-bromosuccinimida e trietilamina para dar os correspondentes derivados de β,β -dibromodesidroalaninas e β -bromodesidroaminoácidos β -substituídos. Estes compostos foram sujeitos a *N*-etilação nas condições anteriormente descritas. Dependendo da natureza do desidroaminoácido β -halogenado e do grupo protector, obtiveram-se diferentes rendimentos em produto *N*-etilado. Estes variaram desde conversão total em produto, a ausência completa de *N*-etilação. Alguns destes derivados de *N*-etil-desidroaminoácidos foram usados com sucesso em reacções de acoplamento de Suzuki-Miyaura com o ácido fenilborónico.

Uma possível alternativa ao uso de grupos electroretirador que aumentem a acidez do protão NH e permitem a *N*-alquilação é o uso de bases fortes como auxiliares. Assim, substituiu-se a base *N,N*-diisopropiletilamina por uma base mais forte, o *tert*-butóxido de potássio. Os substratos cuja reacção de etilação, nas condições anteriormente descritas, foi incompleta, ou em que não houve alquilação, foram sujeitos a *N*-etilação nas novas condições, obtendo-se, em todos os casos, reacções completas com rendimentos elevados em produto *N*-etilado (79-97%).

O uso da base forte, *tert*-butóxido de potássio permitiu, ainda, a *N*-etilação de derivados de desidroaminoácidos não halogenados com grupos protectores uretano e com o grupo 4-toluenosulfonilo, para dar derivados de *N*-etil-desidroaminoácidos com rendimentos elevados.

Para demonstrar a aplicabilidade destes compostos em síntese peptídica, alguns esteres metílicos de *N*-etil-desidroaminoácidos sofreram clivagem do éster e foram acoplados com um éster metílico de um aminoácido, possibilitando a formação de *N*-etil-desidrodipeptidos com bons rendimentos.

Abstract

The synthesis of new non-natural amino acids is described, specifically *N*-ethyldehydroamino acid derivatives from β -hydroxyamino acid derivatives, using dehydration and *N*-ethylation procedures previously developed. These non-proteinogenic amino acids which incorporate both an *N*-ethyl and a α,β -dehydro moiety can be interesting precursors of new peptides with potential pharmacological activity.

Initially, the methyl esters of *N*-ethyl, *N*-(4-nitrobenzenesulfonyl)-dehydroamino acids were obtained from the methyl esters of *N*-(4-nitrobenzenesulfonyl), β -hydroxyamino acids (serine, threonine and phenylserine) by a sequence of dehydration (di-*tert*-butyl dicarbonate / 4-dimethylpyridine) and *N*-ethylation (triethyloxonium tetrafluoroborate / *N,N*-diisopropylethylamine) procedures.

Subsequently, *N*-ethyl, β -halogenated dehydroamino acids with different amine protecting groups were synthesized. Dehydroamino acid derivatives were prepared from β -hydroxyamino acids *N*-protected with urethane, acyl and sulfonyl groups. These *N*-acyldehydroamino acid derivatives were reacted with *N*-bromosuccinimide and triethylamine to give the corresponding β,β -dibromodehydroalanines and β -substituted β -bromodehydroamino acid derivatives. These compounds were subject to *N*-ethylation using the conditions described above. Depending on the nature of the β -halogenated dehydroamino acids and of the protecting group, different yields of *N*-ethylated product were obtained. These varied from total conversion to product, to complete absence of *N*-ethylation. Some of these *N*-ethyldehydroamino acid derivatives were used successfully as substrates in Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions with phenyl boronic acid.

As an alternative to the use of strong electron withdrawing moieties to enhance the acidity of the NH proton and allow *N*-alkylation, a strong base can be used. Thus, the alkylation procedure was carried out substituting potassium *tert*-butoxide for *N,N*-diisopropylethylamine. The substrates that previously had given no alkylation, or incomplete reactions, were subject to ethylation using potassium *tert*-butoxide as base. In all cases the reactions were complete and the product could be isolated in high yields (79-97%).

This method was also applied for *N*-ethylation of non-halogenated dehydroamino acids with urethane protecting groups and the 4-toluenesulfonyl group, to give *N*-ethyldehydroamino acid derivatives in high yields.

In order to demonstrate the applicability of these compounds in peptide synthesis, some of these *N*-ethylated methyl ester derivatives were subject to cleavage of the methyl ester and subsequent coupling with amino acid methyl esters to give *N*-ethyldehydrideptide derivatives in good yields.

Publicações

Alguns dos resultados apresentados nesta tese constam das seguintes publicações/comunicações:

Publicações em revistas internacionais:

L.S. Monteiro, A.C. Suárez “High yielding synthesis of *N*-ethyl dehydroamino acids” submetido para publicação.

L.S. Monteiro, J.J. Andrade, A.C. Suárez “Synthesis of new *N*-ethyl dehydroamino acid derivatives: *N*-ethyl β,β -dibromo, *N*-ethyl β -bromo β -substituted, *N*-ethyl β,β -disubstituted *N*-protected dehydroamino acid methyl esters” *Eur. J. Org. Chem.*, 2011, DOI: 10.1002/ejoc.201100907.

L.S. Monteiro, J. Kołomańska, A.C. Suárez “Synthesis of novel non-proteinogenic amino acids: *N*-ethyl- α,β -dehydroamino acid methyl esters” *Eur. J. Org. Chem.*, 2010, 6731-6735 DOI: 10.1002/ejoc.201001302.

Publicações em actas de congressos internacionais com sistema de referees:

L.S. Monteiro, J. Kołomańska, A.C. Suárez, “Synthesis of novel non-proteinogenic amino acids: *N*-ethyldehydroamino acids”, *Proceedings of the 31st European Peptide Symposium*, M. Lebl, M. Meldal, K.J. Jensen, T. Hoeg-Jensen (Eds.) European Peptide Society, 2010, pp. 128-129.

Comunicações em painel em congressos internacionais

L.S. Monteiro, J. Kołomańska, A.C. Suárez "Synthesis of novel non-proteinogenic amino acids: *N*-ethyldehydroamino acids”, *31st European Peptide Symposium*, Copenhaga, Dinamarca, 5 a 9 de Setembro de 2010.

Comunicações em painel em congressos nacionais:

L.S. Monteiro, J.J. Andrade, A.C. Suárez "Synthesis of new *N*-ethyl dehydroamino acids", *9º Encontro Nacional de Química Orgânica*, Universidade do Minho, Braga, Portugal, 3 a 6 de Julho de 2011.

L.S. Monteiro, J. Kołomańska, A.C. Suárez "Synthesis of *N*-Ethylated non-proteinogenic amino acids: *N*-ethyldehydroamino acids and *N*-ethyl, β -heterocyclic amino acids", *2nd National Meeting on Medicinal Chemistry*, Universidade de Coimbra, Portugal, 28 a 30 de Novembro de 2010.

Abreviaturas e símbolos

| | |
|----------------------------------|---|
| % | Porcentagem |
| 2-Fur | Grupo 2-furanoílo |
| aa | Aminoácido |
| ACN | Acetonitrilo |
| Ala | <i>L</i> -Alanina |
| aq. | Aquoso |
| Boc | Grupo <i>tert</i> -butiloxicarbonilo |
| Boc ₂ O | Piromcarbonato de <i>tert</i> -butilo |
| Bz(4-OMe) | Grupo 4-metoxibenzoílo |
| d | Dupleto |
| DBU | 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno |
| DCC | Diciclo-hexilcarbodiimida |
| DCM | Diclorometano |
| DEAD | Azodicarboxilato de dietilo |
| DIPEA | <i>N,N</i> -di-isopropiletilamina |
| DMAP | 4-(<i>N,N</i> -dimetilamino)piridina |
| DMF | <i>N,N</i> -dimetilformamida |
| DMSO | Dimetilsulfóxido |
| <i>D</i> -Phe ou F | <i>D</i> -Fenilalanina |
| equiv. | Equivalentes |
| Et ₃ N | Trietilamina |
| Et ₃ OBf ₄ | Tetrafluoroborato de trietiloxónio |
| EtI | Iodeto de etilo |
| EtOH | Etanol |
| Fmoc | Grupo 9-fluorenilmetoxicarbonilo |
| Fmoc-Cl | Cloroformiato de 9-fluorenilmetoxicarbonilo |
| h | Horas |
| HFA | Hexafluoroacetona |
| HMBC | <i>Heteronuclear Multiple Bond Coherence</i> |
| HMQC | <i>Heteronuclear Multiple Quantum Coherence</i> |
| HOBt | 1-Hidroxibenzotriazole |

| | |
|------------------------|--|
| HRMS | Espectrometria de massa de alta resolução (<i>High Resolution Mass Spectrometry</i>) |
| <i>J</i> | Constante de acoplamento (expressa em Hz) |
| LiHMDS | Bis(trimetilsilil)amida de lítio |
| m | Multiplete |
| MeI | Iodeto de metilo |
| MeOH | Metanol |
| min. | Minutos |
| mM | Milimolar (mmol/L) |
| mmol | Milimoles |
| mol% | Equivalentes em percentagem molar |
| NBS | <i>N</i> -bromosuccinimida |
| Nosilo | Grupo 4-nitrofenilsulfonilo |
| °C | Graus centígrados |
| p.f. | Ponto de fusão |
| Phe ou F | <i>L</i> -Fenilalanina |
| ppm | Partes por milhão |
| q | Quarteto |
| RMN de ¹³ C | Ressonância Magnética Nuclear de carbono 13 |
| RMN de ¹ H | Ressonância Magnética Nuclear de protão |
| s | Singleto |
| s. l. | Singleto largo |
| Ser | <i>L</i> -Serina |
| t | Triplete |
| t.a. | Temperatura ambiente |
| t.l.c. | Cromatografia em camada fina (<i>Thin Layer Chromatography</i>) |
| ^t Bu | <i>Terc</i> -butilo |
| TFA | Ácido trifluoracético |
| THF | Tetrahidrofurano |
| Thr | Treonina |
| TMG | <i>N,N,N',N'</i> -tetrametilguanidina |
| Tosilo ou Tos | Grupo 4-toluenosulfonilo |
| TPP | Trifenilfosfina |

| | |
|---------------------|--|
| Z | Grupo benziloxicarbonilo |
| Z(NO ₂) | Grupo 4-nitrobenziloxicarbonilo |
| δ | Desvio químico (expresso em unidades de ppm) |
| Δ Abu | Ácido Desidroaminobutírico |
| Δ Ala | Desidroalanina |
| δ_C | Desvio químico de carbono |
| δ_H | Desvio químico de próton |
| Δ Phe | Desidrofenilalanina |
| η | Rendimento |

Índice

| | |
|---|-----------|
| Capítulo 1 – Introdução | 1 |
| 1. Introdução | 3 |
| 1.1. Desidroaminoácidos | 6 |
| 1.1.1. Síntese de desidroaminoácidos por reacções de eliminação | 8 |
| 1.2. <i>N</i> -Alquilaminoácidos | 11 |
| Capítulo 2 – Resultados e Discussão | 17 |
| 2. Introdução | 19 |
| 2.1. Síntese dos esteres metílicos de <i>N</i> -(4-nitrobenzenesulfonyl), <i>N</i> -etildesidroaminoácidos. | 21 |
| 2.2. Síntese dos esteres metílicos de <i>N</i> -acil, <i>N</i> -etildesidroaminoácidos β -halogenados. | 25 |
| 2.3. Acoplamento de Suzuki-Miyaura com o ácido fenilborónico de esteres metílicos de <i>N</i> -acil, <i>N</i> -etil, β,β -dibromodesidroalaninas e de <i>N</i> -acil, <i>N</i> -etil, β -bromo desidroaminoácidos β -substituídos. | 35 |
| 2.4. Síntese dos esteres metílicos de <i>N</i> -acil, <i>N</i> -etildesidroaminoácidos β -halogenados substituindo DIPEA por <i>tert</i> -butóxido de potássio como base. | 36 |
| 2.5. Síntese dos esteres metílicos de <i>N</i> -acil, <i>N</i> -etildesidroaminoácidos. | 39 |
| 2.6. Síntese dos esteres metílicos de <i>N</i> -acil, <i>N</i> -etildesidrodipetidos. | 41 |
| Capítulo 3 – Conclusão | 45 |
| Capítulo 4 – Parte Experimental | 49 |
| 4. Procedimentos gerais | 51 |
| 4.1. Síntese dos esteres metílicos de β -hidroxiaminoácidos. | 52 |
| 4.2. Síntese de esteres metílicos de β -hidroxiaminoácidos <i>N</i> -protegidos. | 52 |
| 4.2.1. Síntese de Nosil- <i>L</i> -Thr-OMe (composto 2a). | 52 |
| 4.2.2. Síntese de <i>Z-D,L</i> -Phe(β -OH)-OMe (composto 3c). | 53 |
| 4.3. Síntese de esteres metílicos de <i>N</i> -(<i>tert</i> -butoxicarbonil), <i>N</i> -(4-nitrofenilsulfonyl)- α,β -desidroaminoácidos. | 54 |

| | | |
|----------|---|----|
| 4.3.1. | Síntese de Nosil-Z- Δ Abu(<i>N</i> -Boc)-OMe (composto 4a). | 54 |
| 4.4. | Síntese dos esteres metílicos de <i>N</i> -(4-nitrofenilsulfonil)- α,β - desidroaminoácidos. | 55 |
| 4.4.1. | Síntese de Nosil- Δ Abu-OMe (composto 7a). | 55 |
| 4.5. | Síntese dos esteres metílicos de desidroaminoácidos <i>N</i> -protegidos. | 56 |
| 4.5.1. | Síntese de Z(NO ₂)-Z- Δ Phe-OMe (composto 8b). | 56 |
| 4.5.2. | Síntese de Z-Z- Δ Phe-OMe (composto 8c). | 57 |
| 4.6. | Síntese dos esteres metílicos de <i>N</i> -etil, <i>N</i> -Nosildesidroaminoácidos. | 58 |
| 4.6.1. | Síntese de Nosil- <i>N</i> (Et)- Δ Abu-OMe (composto 10a). | 58 |
| 4.7. | Síntese dos esteres metílicos de <i>N</i> -etil, <i>N</i> -Nosil β -hidroxiaminoácidos... .. | 59 |
| 4.8. | Síntese dos esteres metílicos de <i>N</i> -etil, <i>N</i> -Nosildesidroaminoácidos. | 59 |
| 4.8.1. | Síntese de Nosil- <i>N</i> (Et)- Δ Ala-OMe (composto 9a). | 60 |
| 4.9. | Síntese dos esteres metílicos de β -halodesidroaminoácidos <i>N</i> -protegidos... .. | 60 |
| 4.9.1. | Síntese de Z(NO ₂)-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe (composto Z- 17b). | 61 |
| 4.9.2. | Síntese de Z-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe (composto Z- 17c). | 62 |
| 4.10. | Síntese dos esteres metílicos de <i>N</i> -acil, <i>N</i> -etil- β,β -dibromodesidroalaninas e <i>N</i> -acil, <i>N</i> -etil- β -bromo desidroaminoácidos β -substituídos. | 62 |
| 4.10.1. | Síntese de Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)- Δ Ala(β,β -Br)-OMe (composto 19b). | 63 |
| 4.10.2. | Síntese de Z- <i>N</i> (Et)- Δ Ala(β,β -Br)-OMe (composto 19c). | 63 |
| 4.10.3. | Síntese de Boc- <i>N</i> (Et)- Δ Ala(β,β -Br)-OMe (composto 19d). | 64 |
| 4.10.4. | Síntese de 2-Fur- <i>N</i> (Et)- Δ Ala(β,β -Br)-OMe (composto 19f). | 64 |
| 4.10.5. | Síntese de Bz(4-OMe)- <i>N</i> (Et)- Δ Ala(β,β -Br)-OMe (composto 19g). .. | 65 |
| 4.10.6. | Síntese de Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)- <i>E</i> - Δ Abu(β -Br)-OMe (composto <i>E</i> - 20b)... .. | 66 |
| 4.10.7. | Síntese de Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe (composto Z- 20b). .. | 66 |
| 4.10.8. | Síntese de Z- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe (composto Z- 20c). | 67 |
| 4.10.9. | Síntese de Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe (composto Z- 21b). ... | 68 |
| 4.10.10. | Síntese de Z- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe (composto Z- 21c). | 68 |

| | |
|---|----|
| 4.10.11. Tentativa de síntese de Boc- <i>N</i> (Et)- <i>Z</i> - Δ Phe(β -Br)-OMe (composto Z-21d). | 69 |
| 4.11. Síntese dos esteres metílicos de <i>N</i> -acil, <i>N</i> -etil- β,β -dibromodesidroalaninas e <i>N</i> -acil, <i>N</i> -etil- β -bromo desidroaminoácidos β -substituídos usando como base <i>terc</i> -butóxido de potássio. | 69 |
| 4.11.1. Síntese de Boc- <i>N</i> (Et)- Δ Ala(β,β -Br)-OMe (composto 19d). | 70 |
| 4.11.2. Síntese de Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)- <i>E</i> - Δ Abu(β -Br)-OMe (composto E-20b)... .. | 70 |
| 4.11.3. Síntese de Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)- <i>Z</i> - Δ Abu(β -Br)-OMe (composto Z-20b). .. | 70 |
| 4.11.4. Síntese de <i>Z</i> - <i>N</i> (Et)- <i>Z</i> - Δ Abu(β -Br)-OMe (composto Z-20c). | 70 |
| 4.11.5. Síntese de Boc- <i>N</i> (Et)- <i>E</i> - Δ Abu(β -Br)-OMe (composto E-20d)..... | 70 |
| 4.11.6. Síntese de Boc- <i>N</i> (Et)- <i>Z</i> - Δ Abu(β -Br)-OMe (composto Z-20d). | 71 |
| 4.11.7. Síntese de Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)- <i>Z</i> - Δ Phe(β -Br)-OMe (composto Z-21b). ... | 71 |
| 4.11.8. Síntese de <i>Z</i> - <i>N</i> (Et)- <i>Z</i> - Δ Phe(β -Br)-OMe (composto Z-21c). | 71 |
| 4.11.9. Síntese de Boc- <i>N</i> (Et)- <i>Z</i> - Δ Phe(β -Br)-OMe (composto Z-21d)..... | 72 |
| 4.11.10. Síntese de Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)- <i>Z</i> - Δ Phe(β -I)-OMe (composto Z-22b)..... | 72 |
| 4.11.11. Síntese de Boc- <i>N</i> (Et)- <i>Z</i> - Δ Phe(β -I)-OMe (composto Z-22d). | 73 |
| 4.12. Acoplamento de Suzuki do ácido fenilborónico com os esteres metílicos <i>N</i> -acil, <i>N</i> -etil β -bromo α,β -desidroaminoácidos. | 74 |
| 4.12.1. Síntese de <i>Z</i> - <i>N</i> (Et)- <i>Z</i> - Δ Abu(β -C ₆ H ₅)-OMe (composto Z-23c). | 74 |
| 4.12.2. Síntese de Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)- Δ Phe(β -C ₆ H ₅)-OMe (composto 24b). | 75 |
| 4.12.3. Síntese de Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)- Δ Phe(β -C ₆ H ₅)-OMe (composto 24b). | 75 |
| 4.13. Síntese dos esteres metílicos de <i>N</i> -acil, <i>N</i> -etildesidroaminoácidos. | 76 |
| 4.13.1. Síntese de Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)- Δ Ala-OMe (composto 25b). | 76 |
| 4.13.2. Síntese de <i>Z</i> - <i>N</i> (Et)- Δ Ala-OMe (composto 25c)..... | 77 |
| 4.13.3. Síntese de Boc- <i>N</i> (Et)- Δ Ala-OMe (composto 25d). | 77 |
| 4.13.4. Síntese de Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)- <i>Z</i> - Δ Abu-OMe (composto Z-26b). | 78 |
| 4.13.5. Síntese de <i>Z</i> - <i>N</i> (Et)- <i>Z</i> - Δ Abu-OMe (composto Z-26c). | 78 |
| 4.13.6. Síntese de Boc- <i>N</i> (Et)- <i>Z</i> - Δ Abu-OMe (composto Z-26d). | 79 |

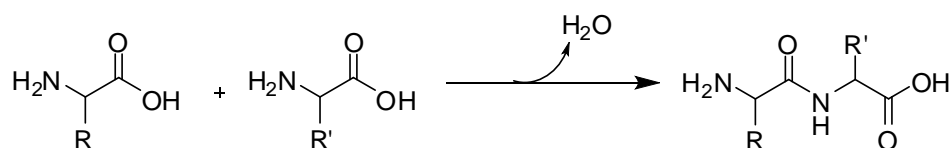
| | | |
|---------------------------|--|-----------|
| 4.13.7. | Síntese de Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)-Z-ΔPhe-OMe (composto Z- 27b). | 80 |
| 4.13.8. | Síntese de Z- <i>N</i> (Et)-Z-ΔPhe-OMe (composto Z- 27c). | 80 |
| 4.13.9. | Síntese de Boc- <i>N</i> (Et)-Z-ΔPhe-OMe (composto Z- 27d). | 81 |
| 4.14. | Saponificação de esteres metílicos de <i>N</i> -acil, <i>N</i> -etildesidroaminoácidos. 82 | |
| 4.14.1. | Síntese de Boc- <i>N</i> (Et)-ΔAla-OH (composto 28d). | 82 |
| 4.14.2. | Síntese de Z- <i>N</i> (Et)-Z-ΔAbu-OH (composto Z- 29c). | 82 |
| 4.14.3. | Síntese de Z- <i>N</i> (Et)-Z-ΔPhe-OH (composto Z- 30c). | 83 |
| 4.15. | Síntese de éteres metílicos de <i>N</i> -acil, <i>N</i> -etildesidrodipéptidos. | 84 |
| 4.15.1. | Síntese de Z- <i>N</i> (Et)-Z-ΔAbu- <i>L</i> -Phe-OMe (composto 31c). | 84 |
| 4.15.2. | Síntese de Z- <i>N</i> (Et)-Z-ΔPhe- <i>L</i> -Phe-OMe (composto 32c). | 85 |
| Bibliografia | | 87 |

Capítulo 1

Introdução

1. Introdução

Aminoácidos são compostos que apresentam na sua estrutura o grupo ácido carboxílico (-COOH) e o grupo amina (-NH₂), ligados ou não ao mesmo átomo de carbono, têm ainda um hidrogénio e uma cadeia lateral (R). Muitos são os aminoácidos que actualmente se conhecem, sendo que destes, apenas 20 entram na composição das proteínas. Estas pequenas moléculas ligam-se covalentemente entre si por ligação amida do grupo carboxílico de um aminoácido com o grupo NH₂ de outro, com a eliminação de uma molécula de água (reacção de condensação) para formar ligações peptídicas (Esquema 1), resultando cadeias poliméricas curtas – péptidos, ou cadeias mais longas – proteínas. As diferentes cadeias laterais dos aminoácidos permitem obter péptidos com estruturas e propriedades distintas.



Esquema 1. Formação da ligação peptídica.

A elevada especificidade e baixa toxicidade, entre outras, são as grandes vantagens que os péptidos apresentam para o tratamento de doenças e que despertou o interesse da indústria farmacêutica. No entanto, a rápida degradação pelas proteases e elevada flexibilidade são algumas das desvantagens que limitam a sua aplicação. Uma das vias para eliminar estas limitações é a introdução de aminoácidos não naturais nas cadeias peptídicas.

Os aminoácidos não naturais são uma classe de compostos orgânicos que podem ter actividade biológica intrínseca ou podem ser encontrados em péptidos com actividade antiviral, anti-tumoral, anti-inflamatória ou imunossupressora. A incorporação de aminoácidos não-proteinogénicos em péptidos e proteínas é uma óptima via para a obtenção de compostos com novas propriedades estruturais, químicas e farmacológicas. Este tipo de aminoácidos podem ser *D*-aminoácidos, *C^{α,α}*-dialquilglicinas, β-aminoácidos, alaninas β-substituídas, α,β-desidroaminoácidos e *N*-alquilaminoácidos.

D-Aminoácidos

Todos os aminoácidos, com a excepção da glicina, têm o carbono alfa assimétrico (quiral), o que lhes confere actividade óptica. Deste modo para cada aminoácido existem dois enantiómeros, que se convencionou designar por *D* e *L*, sendo a atribuição definida pela posição do grupo NH_2 relativamente ao C_α (Figura 1).

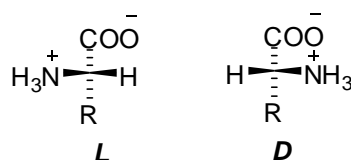


Figura 1. Enantiómeros *D* e *L* dos aminoácidos.

Embora aminoácidos com configuração *D* possam ser encontrados na natureza, apenas os *L* entram na composição das proteínas. Péptidos contendo *D*-aminoácidos foram isolados a partir da pele de anfíbios, vários invertebrados e bactérias. A dermorfina (Figura 2) é um heptapeptido isolado a partir da secreção de uma espécie de sapos, *Phyllomedusa sauvagei*, que mostrou ter elevada afinidade e selectividade para os receptores opiáceos do tipo μ , actuando como analgésico, sendo 300 vezes mais potente que a morfina. A sequência de aminoácidos deste heptapeptido é H-Tyr-*D*-Ala-Phe-Gly-Tyr-Pro-Ser-NH₂.^[1]

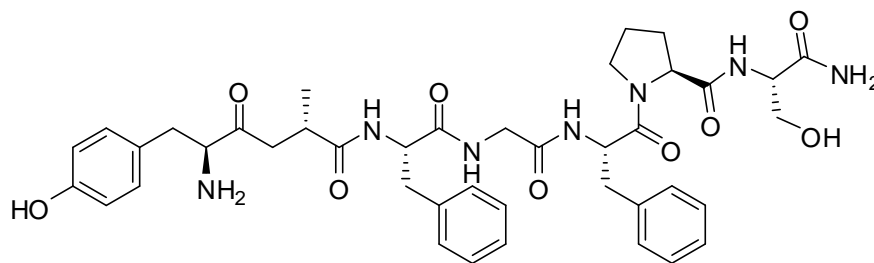


Figura 2. Estrutura da dermorfina.

A gramicidina S (Figura 3) é um antibiótico contra bactérias Gran-positivas e Gran-negativas e alguns fungos. Isolado a partir de bactérias Gran-positivas, *Bacillus brevis*, é um ciclo-decapeptido que apresenta na sua estrutura a *D*-fenilalanina [ciclo(Val-Orn-Leu-*D*-Phe-Pro)₂].

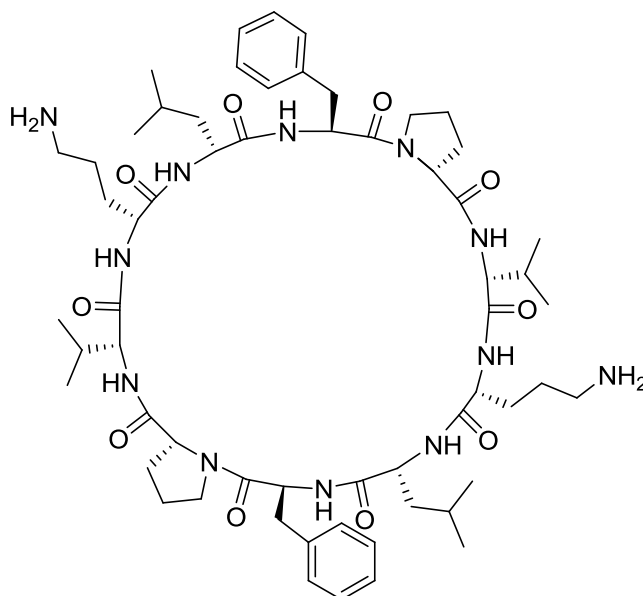


Figura 3. Estrutura da gramicidina S.

$C^{\alpha,\alpha}$ -Dialquilglicinas

Peptídeos contendo $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas têm sido isolados a partir de fungos,^[2] e constituem uma classe de antibióticos polipeptídicos e ionóferos-peptaibols.^[3] A introdução de $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilaminoácidos em peptídeos resulta em restrições conformacionais que favorecem uma determinada conformação da cadeia,^[4] assim como aumentam a resistência às proteases.^[5]

β -Aminoácidos

Os β -aminoácidos (Figura 4) apresentam o grupo amina ligado ao carbono- β , embora menos abundantes que os α -aminoácidos estão presentes em peptídeos e em alguns produtos naturais. Estas moléculas podem ser usadas para a síntese de peptídeos modificados com aumento da sua atividade e estabilidade *in vivo*. Os β -aminoácidos entram na estrutura do taxol (Figura 5), agente anticancerígeno, e também são precursores das β -lactamas, que apresentam potencialidades como antibióticos.^[6]

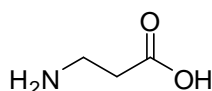


Figura 4. β -Alanina, o β -aminoácido mais simples.

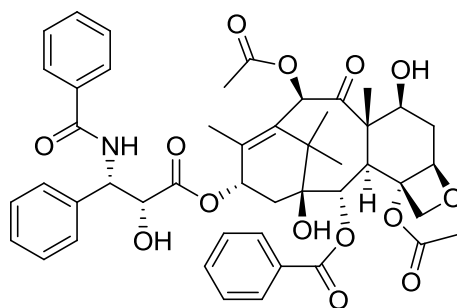


Figura 5. Estrutura do Taxol.

Alaninas β -substituídas

As alaninas β -substituídas apresentam actividades biológicas importantes e deste grupo fazem parte o ácido quisquálico, isolado a partir de fonte vegetal *Quisqualis indica*, que possui uma potente actividade neuroexitatória;^[7] o β -(pyrazol-1-il)-alanina isolada a partir do sumo da melancia *Citrullus vulgaris* e que apresenta propriedades hipoglicémicas^[8] e o β -(1,2,4-triazol-1-il)-alanina que é conhecido como um metabolito importante em plantas do fungicida miclobutanilo.^[9]

1.1. Desidroaminoácidos

Aminoácidos contendo uma ligação dupla entre o carbono- α e o carbono- β designam-se por desidroaminoácidos α,β -insaturados. Apresentam um importante papel na biossíntese de outros aminoácidos não-proteinogénicos, nomeadamente, *D*-aminoácidos e alaninas β -substituídas. Podem ser encontrados em algumas leveduras e bactérias, em que contribuem para o papel catalítico no centro activo de algumas enzimas, bem como numa variedade de antibióticos peptídicos de origem bacteriana, que incluem os lantibióticos.^[10-13]

Os lantibióticos são péptidos com 20 a 40 aminoácidos que contêm o desidroaminoácido lantionina. Este grupo de antibióticos é produzido por várias bactérias Gram-positivas, tais como *Streptococcus* e *Streptomyces*, sendo activos contra outras bactérias Gram-positivas. A nisina é um lantibiótico amplamente estudado dada

as suas propriedades como conservante alimentar; é um péptido pentacíclico produzido por *Lactococcus lactis* que inibe algumas bactérias Gram-positivas e algumas bactérias patogénicas. A subtilina é outro lantibiótico formado por 32 aminoácidos, com resíduos de desidroalanina e ácido desidroaminobutírico, que inibe o crescimento de bactérias como *Sarcina lutea*, *Staphylococcus áureos* e *Mycobacterium phlei*.

Desidroaminoácidos, como a desidrovalina, desidroleucina e desidrofenilalanina, são constituintes de outros antibióticos que apresentam igualmente actividade biológica.^[14-16]

A presença de resíduos de aminoácidos α,β -insaturados em cadeias peptídicas provoca alterações nas propriedades químicas e biológicas dos péptidos. O arranjo dos átomos da ligação peptídica e da ligação dupla é uma estrutura planar rígida, uma vez que a ligação dupla está conjugada com a ligação peptídica. Esta conjugação influencia tanto a conformação da cadeia principal, como da cadeia lateral. Para além disto, perde-se a quiralidade característica dos α -aminoácidos e aparece o isomerismo *E/Z*, o que torna estes compostos em alvos para estudos conformacionais.^[17-18]

Os desidroaminoácidos não se encontram livres na natureza, aparecem como derivados *N*-acilados ou em péptidos, uma vez que são bastante instáveis ou podem sofrer hidrólise, pelo que têm sido sintetizados como derivados de amidas, esteres carboxílicos ou *N*-acilos.

A principal via biossintética descrita para os derivados α,β -desidroaminoácidos é a β -eliminação usando como precursores a serina, a cisteína ou a treonina. A desidratação de *N*-hidroxiaminoácidos e α -hidroxiaminoácidos são outras possíveis vias biossintéticas para a síntese de desidroaminoácidos.^[10]

Vários métodos para a síntese química de α,β -desidroaminoácidos têm sido tentados, entre os quais:

- reacção de condensação de α -cetoácidos com amidas ou nitrilos^[19]
- degradação de Hofmann de resíduos de α,β -diaminopropionilo^[20]
- redução de α -azidoacrilatos e α -azidocarboxilatos^[12a]
- hidrólise de oxazolinonas insaturadas^[21]

No entanto, os métodos que seguem a via biossintética, ou seja, envolvendo reacções de eliminação de β -hidroxiaminoácidos, β -mercaptoaminoácidos e *N*-hidroxiaminoácidos são os mais importantes.

1.1.1. Síntese de desidroaminoácidos por reacções de eliminação

Para a síntese de desidroalaninas e do ácido desidroaminobutírico, têm sido utilizados como compostos de partida derivados de serina e treonina, respectivamente, e vários reagentes que induzem reacções de eliminação.

Trifenilfosfina e dietilazodicarboxilato foram usados para desidratar derivados de esteres metílicos de *N*-acilserina e treonina. No entanto, os rendimentos obtidos foram moderados e para os derivados do ácido desidroaminobutírico obteve-se uma mistura de 1/1 dos isómeros *E* e *Z*.^[22]

Esteres de *N*-benziloxycarbonil-desidroaminoácidos foram obtidos com bons rendimentos a partir da reacção dos esteres de *N*-benziloxycarbonilserina e treonina na presença de dietilclorofostato e hidreto de sódio em THF. No caso da síntese do ácido desidroaminobutírico a reacção foi estereosselectiva para o isómero-*Z*.^[23]

Mais tarde, Goodall e Parson sintetizaram desidroaminoácidos por reacção de β -hidroxiaminoácidos (serina e treonina) com cloreto de dicloroacetilo na presença de uma amina terciária como base, obtendo rendimentos entre 58-89%. Porém a reacção não foi estereosselectiva para os derivados de treonina.^[24]

A cisteína também pode ser usada como precursor para a síntese de desidroalaninas, pelo que foram desenvolvidos alguns métodos, como por exemplo, o tratamento de *N*-(4-clorobenziloxycarbonil)cisteína com DCC permitindo obter *N*-(4-clorobenziloxycarbonil) desidroalaninas.^[25]

A síntese selectiva dos isómeros *Z* e *E* do ácido desidroaminobutírico pode ser obtida a partir de *L*- e *L-allo*-treonina, respectivamente, por reacção com selenocianato e tributilfosfina em piridina para dar inicialmente o selenoéter, com subsequente eliminação oxidativa por tratamento com peróxido de hidrogénio.^[26]

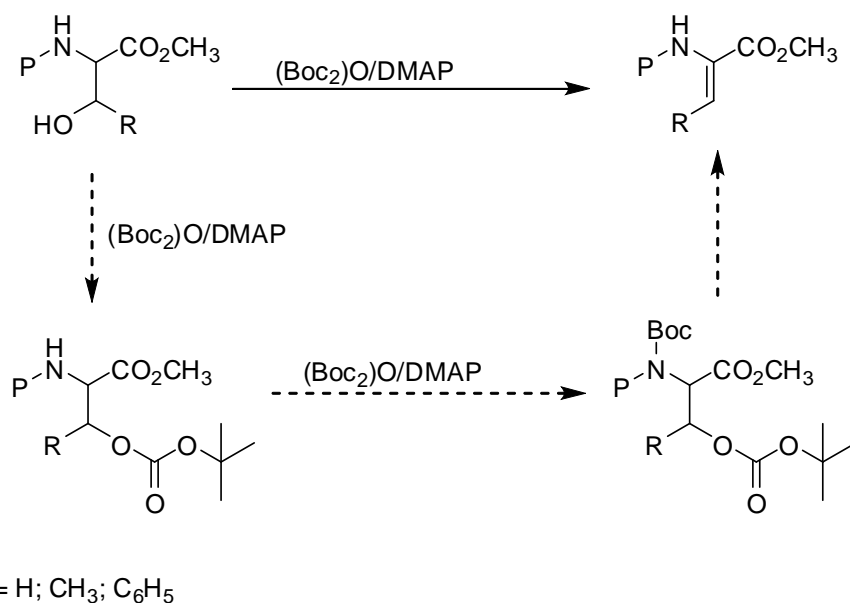
O tratamento de *N*-hidroxiaminoácidos com trietilamina em bezeno seco permitiu obter derivados de desidroaminoácidos.^[27] A substituição da base trietilamina por DBU permitiu reduzir os tempos de reacção.^[28]

Alguns dos métodos acima mencionados são processos com baixos rendimentos, com várias etapas e vários produtos secundários, pelo que foi necessário desenvolver outros métodos mais simples e eficientes para a síntese destes compostos.

Baseado no método de Berkowitz e Pederson,^[29] ou seja, protecção simultânea com cloroformiato de benzilo da função amina e da função carboxilo de aminoácidos na presença de DMAP e trietilamina, Ferreira *et al.* verificaram que nestas condições a

serina sofre eliminação para dar Z- Δ Ala-OBzl com rendimento de 51%.^[30] Da aplicação do mesmo método a derivados de serina com outros grupos *N*-protectores [Boc, Z, Z(NO₂) e Tos] ou protegidos no *N*- e *C*-terminal, obteve-se derivados de desidroalaninas com rendimentos entre 56-76%. Com a treonina a reacção foi completa, porém não foi possível obter o produto puro, mas uma mistura dos dois estereoisómeros do ácido desidroaminobutírico.

O método patenteado por Nugent^[31] para a síntese de desidroaminoácidos a partir de β -hidroxiaminoácidos, demonstra que a introdução de um segundo grupo volumoso no átomo de azoto pode facilitar a reacção de eliminação e, consequentemente aumentar os rendimentos. Ragnarsson *et al.*^[32] desenvolveram um método para introdução do grupo *tert*-butiloxicarbonilo no átomo de azoto de aminas *N*-aciladas por reacção destas com pirocarbonato de *tert*-butilo na presença de DMAP. Ferreira *et al.* aplicaram este método para simultaneamente formarem o derivado carbonato de *tert*-butilo e introduzir o grupo Boc como segundo grupo acilante por reacção de derivados de β -hidroxiaminoácidos *N*-protegidos com 2 equivalentes de pirocarbonato de *tert*-butilo na presença de DMAP. Este carbonato sofre eliminação com formação do correspondente derivado de desidroaminoácido. Assim, os esteres metílicos de serina, treonina e β -hidroxifenilalanina protegidos com Boc, Z, Z(NO₂), Tos e Bz, fizeram-se reagir com 2 equiv. de pirocarbonato de *tert*-butilo na presença de DMAP como catalisador em acetonitrilo seco, obtendo-se os correspondentes desidroaminoácidos com excelentes rendimentos^[33] (Esquema 2).



Esquema 2.

De salientar que por este procedimento a reacção foi estereosselectiva dando apenas o isómero-*Z* dos derivados de ácido desidroaminobutírico e desidrofenilalanina. Estes resultados confirmaram que o elevado volume do grupo ligado ao azoto facilita a eliminação-*E*₂ *trans*.

A metodologia desenvolvida por Ferreira *et al.* estendeu-se à preparação de desidropeptidos.^[33b, 34] Desta forma, dipeptidos contendo serina, treonina, ou β-hidroxifenilalanina fizeram-se reagir com 3 equiv. de pirocarbonato de *terc*-butilo, ou seja, 2 equiv. necessários à acilação dos dois átomos de azotos do dipeptido e o terceiro equivalente para formar o cabonato com o carbono-β do hidroxiaminoácido. Os rendimentos foram altos (74-96%) e no caso dos dipeptidos contendo treonina ou β-hidroxifenilalanina a reacção foi estereosselectiva.

Os *N,N*-diacildesidroaminoácidos podem ser utilizados como substratos para a síntese de novos aminoácidos não naturais. Exemplo disso são os β,β-diaril ou heteroarildesidroaminoácidos,^[35] sintetizados através de acoplamentos de Suzuki por reacção de β,β-dibromo desidroalanina,^[35a] ácido β-bromodesidroaminobutírico e β-bromodesidrofenilalanina^[35b] com vários ácidos aril ou heteroarilborónicos.

A síntese de desidroaminoácidos β-bromados a partir de *N,N*-diacildesidroaminoácidos requer a modificação do método acima descrito [2 equiv. de (Boc)₂O e DMAP como catalisador], uma vez que para a reacção de bromação com *N*-

bromossuccinimida (NBS) é necessário remover previamente um dos grupos protectores da amina. Normalmente é clivado o grupo *terc*-butiloxycarbonilo por adição de TFA.^[35b]

Uma vez que a síntese de *N,N*-diacildesidroaminoácidos procede-se em duas etapas (formação do cabonato que, após a ligação do grupo Boc à função amina, sofre β -eliminação, Esquema 2), Ferreira *et al.*^[36] prepararam desidroaminoácidos *N*-monoprottegidos, por adição de apenas 1 equiv. de (Boc)₂O para formar o carbonato, recorrendo a *N,N,N',N'*-tetrametilguanidina (TMG) para induzir a eliminação deste, com formação da ligação dupla α,β . Os derivados de desidroaminoácidos monoacilados foram obtidos com bons rendimentos (65-95%) e no caso dos β -hidroxiaminoácidos β -substituídos o desidroaminoácido isolado foi o isómero-*Z*.

1.2. *N*-Alquilaminoácidos

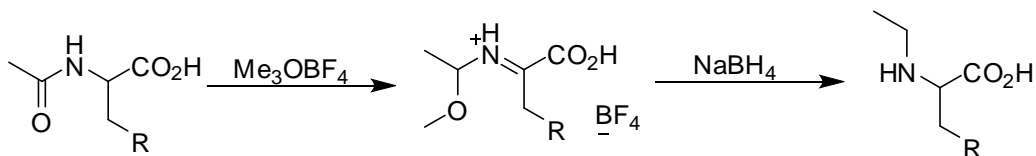
N-Alquilaminoácidos são constituintes de vários péptidos naturais e depsipeptidos, tais como a ciclosporina, a dolastatina e a didemnina, isolados a partir de espécies marinhas e microrganismos.^[37] Vários péptidos *N*-alquilados mostraram actividade antibiótica,^[38] anti-tumoral,^[39] anti-viral^[40] e imunossupressora.^[41]

A *N*-alquilação da ligação peptídica provoca alterações no volume e conformação dos péptidos, resultando numa redução da flexibilidade, aumento da permeabilidade às membranas, resultante de um aumento da lipofilicidade, e prevenção de clivagem por enzimas proteolíticas. Tem sido observado, que a substituição do grupo alquilo ligado à amina por um grupo alquilo maior, favorece a actividade de determinados péptidos.^[43] Por exemplo, a substituição de *N*-metilleucina da ciclosporina A por vários *N*-etilaminoácidos resulta em análogos que exibem actividade imunossupressora e anti-HIV.^[44]

Devido à importância destes compostos, vários métodos de síntese de *N*-alquilaminoácidos têm sido desenvolvidos, sendo a maior parte deles *N*-metilações,^[42] sendo que, apenas alguns métodos de síntese de *N*-etilaminoácidos estão descritos.^[45]

A etilação de aminoácidos livres é susceptível de dar uma mistura de produtos mono e di-etilados,^[46, 47] enquanto a etilação em aminoácidos *N*-protegidos é complicada pela reacção secundária de β -eliminação do agente etilante.^[48]

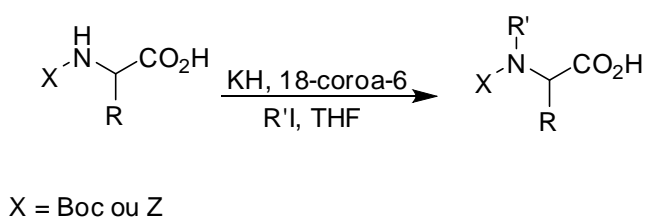
Chen e Benoiton prepararam *N*-etilaminoácidos por reacção de *N*-acetilaminoácidos com tetrafluoroborato de trimetiloxónio (reagente de Meerwein) para dar o fluoroborato do iminoéter, que sofre uma redução com borohidreto de sódio^[49] (Esquema 3).



Esquema 3.

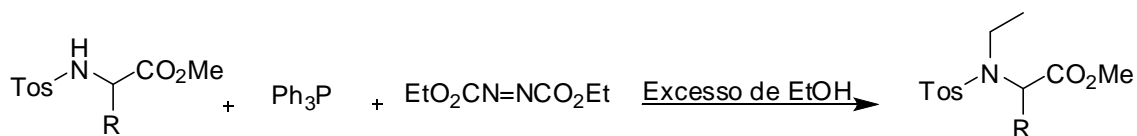
Os produtos obtidos mostraram a presença de uma pequena percentagem (0.6-0.8%) de aminoácido não alquilado e ainda a formação de éster durante a alquilação. A quiralidade em *N*-etileucina foi preservada, mas o mesmo não aconteceu para *N*-etilfenilalanina.

McDermott e Benoiton conseguiram sintetizar *N*-metilaminoácidos *N*-protegidos (Boc ou Z) utilizando o sistema NaH/MeI em THF.^[49, 50] A introdução de um grupo alquílico maior por esta via não foi satisfatória. A reacção de *N*-acilaminoácidos com iodetos de alquilo na presença de KH/18-coroa-6 permitiu obter alguns *N*-Boc ou *N*-Z, *N*-alquilaminoácidos, embora com baixos rendimentos (Esquema 4).



Esquema 4.

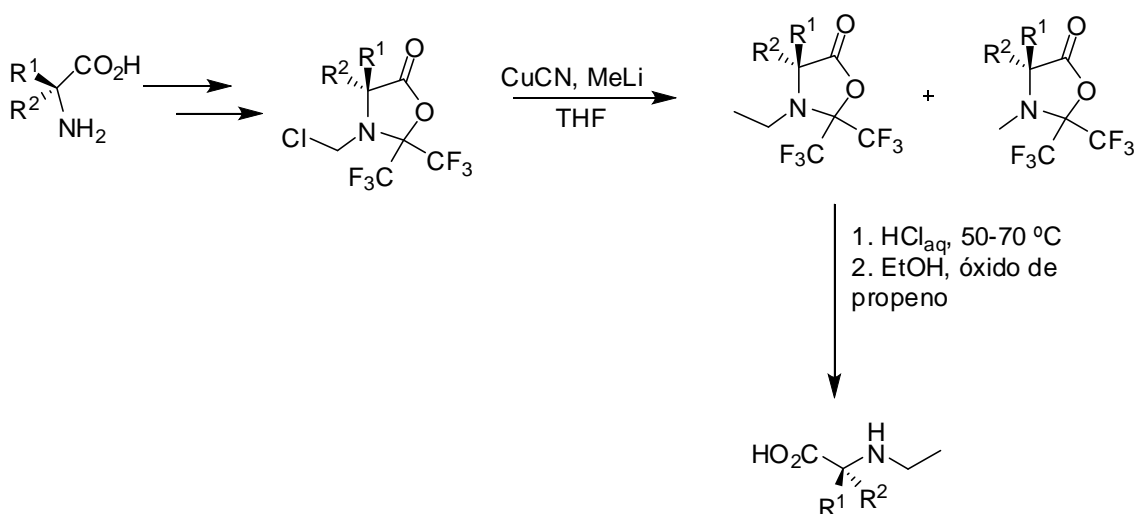
Papaioannou *et al.* aplicaram a reacção de Mitsunobu para a *N*-etilação de tosilamino ésteres com excesso de etanol, na presença de um sistema redox trifenílfosfina (TPP)/azodicarboxilato de dietilo (DEAD), e obtiveram os derivados *N*-etilados com elevados rendimentos^[51] (Esquema 5).



Esquema 5.

Dificuldades encontradas na etapa de detosilação foram ultrapassadas por uma clivagem electroquímica redutiva.^[52]

Schedel e Burger^[53] conseguiram a *N*-etilação de aminoácidos usando hexafluoroacetona (HFA) como agente protector e activante. Os autores demonstraram que compostos *N*-clorometilados podem ser obtidos facilmente via *N*-halometilação de 2,2-bis-(trifluorometil)-oxazolidin-5-ones com paraformaldeído e cloreto de tionilo^[54] (Esquema 6).

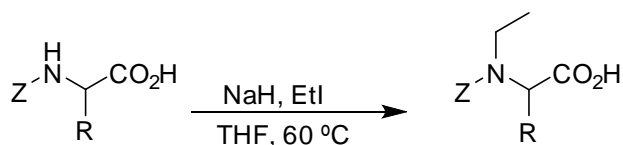


Esquema 6.

A reacção com cuprato (formado a partir de cianeto de cobre I) e 1 equiv. de metil lítio gerou os compostos *N*-etilados e algum análogo *N*-metilado. A hidrólise com HCl aquoso, seguido de tratamento com óxido de propeno em etanol, permitiu a obtenção dos aminoácidos livres com rendimentos entre 15-80%.

Mais tarde, Stodulski e Mlynarski^[55] tentaram com outras bases a mesma estratégia de Benoiton para obter *N*-Z, *N*-etilalanina, no entanto os resultados não foram satisfatórios. Bis(trimetilsilil)amida de lítio (LiHMDS) era uma base muito fraca e carbonato de cézio levou à formação de esteres carboxílicos como produtos únicos. Aplicando as mesmas condições (NaH, MeI, THF) a 60 °C conseguiram obter, após 12h de reacção, *N*-Z, *N*-metilalaninas com óptimos rendimentos. Utilizando outros iodetos

de alquilo (etil, propil e butil) em THF a 60 °C sintetizaram *N*-Z, *N*-alquilalaninas com rendimentos entre bons a excelentes (45%-91%); a *N*-etilação também foi testada com outros aminoácidos (glicina, *L*-valina e *L*-fenilalanina) (Esquema 7).



R = H (glicina); i-Pr (valina); CH₂Ph (fenilalanina)

Esquema 7

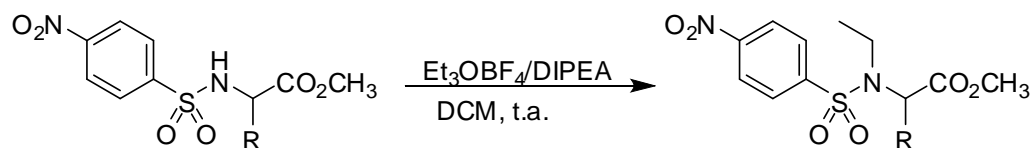
Para a *L*-valina e *L*-fenilalanina a reacção foi praticamente completa, porém são necessários longos tempos de reacção (36-48h), o que resultou na formação de algum éster metílico de ambos os aminoácidos.

A necessidade de um método simples eficaz para sintetizar *N*-etilaminoácidos fez Liguori *et al.*^[56] propor um procedimento do qual pretendiam:

- evitar reacções secundárias que pudessem diminuir o rendimento.
- usar uma base fraca ou diluída para evitar a racemização.
- processo one-pot, sem necessidade de temperaturas altas.
- seleccionar um grupo protector adequado da função amina para suprimir a formação do produto dietilado e aumentar a acidez do protão NH.

Assim, os autores fizeram a *N*-etilação de vários aminoácidos protegidos com o grupo com 4-nitrofenilsulfonilo (Nosilo) usando tetrafluoroborato de trietiloxónio (Et₃OBF₄) como agente alquilante. O grupo protector Nosilo foi descrito por Fukuyama.^[57] Devido ao seu forte efeito electro-retirador, o grupo Nosilo para além de protector da função amina, actua como activante, uma vez que aumenta a acidez do hidrogenio da sulfonamida, aumentando a reactividade em relação a diversos agentes alquilantes.^[58, 59] Desta forma, *N*-Nosil-Ala-OMe foi tratada com 2.5 equiv. de Et₃OBF₄ e 3.5 equiv. de *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA), obtendo-se o correspondente produto *N*-etilado com óptimo rendimento. Outros aminoácidos foram sujeitos às mesmas condições reaccionais para dar os derivados *N*-etilados com rendimentos quase

quantitativos. Aminoácidos com as suas cadeias laterais funcionalizadas (ácido glutâmico, lisina, cisteína e tirosina) protegidos com Boc, *t*-butilo ou benzilo, também foram alquilados com rendimentos entre 85-94% (Esquema 8).



Esquema 8.

O uso estequiométrico de base durante a alquilação leva à redução dos rendimentos para metade. A necessidade de adição de um excesso de base é justificada pela presença de BF_3 e F^- resultantes da decomposição do anião tetrafluoroborato.^[60] Os autores demonstraram ainda a compatibilidade deste processo com a química do Fmoc.^[56, 61] A remoção do grupo Nosilo foi realizada por uma reacção $\text{S}_{\text{N}}2$ com mercaptoetanol, e a função amina, novamente, protegida por reacção com cloreto de fluorenilmetiloxycarbonilo (Fmoc-Cl).

Capítulo 2

Resultados e Discussão

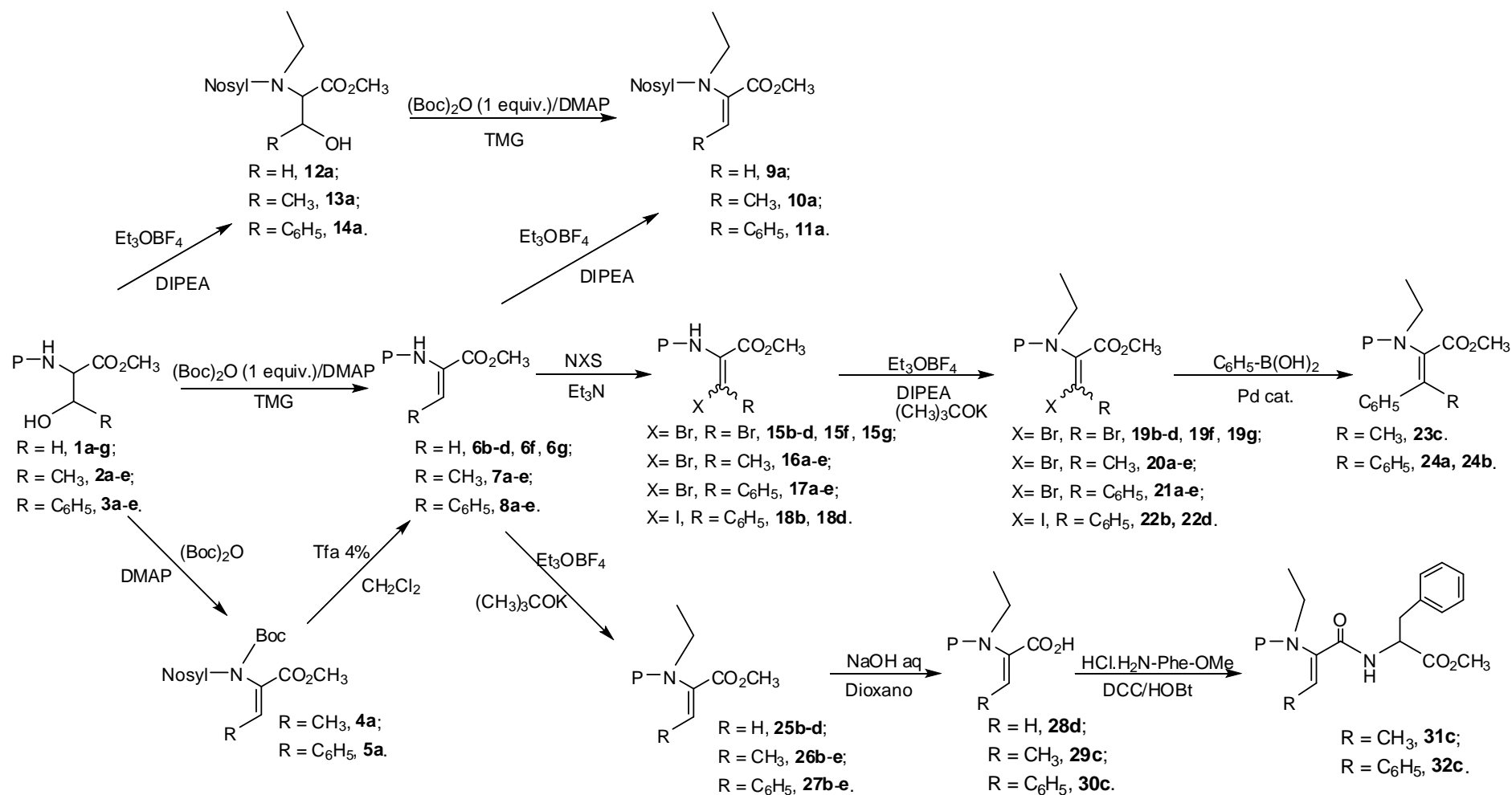
2. Introdução

O tratamento de algumas doenças muitas vezes impõe a preparação de novos compostos ou modificação daqueles que já existem. Neste sentido, péptidos têm merecido especial atenção. Os péptidos actuam geralmente por ligação a moléculas receptoras ou aceitadoras. Contudo, a sua aplicação terapêutica como fármacos é dificultada por diversos condicionalismos intrínsecos: elevada flexibilidade conformacional; perda especificidade e/ou activação de processos biológicos não desejáveis; baixa estabilidade metabólica em relação a enzimas do tracto gastrointestinal. Uma maneira de contornar estes problemas é a incorporação de aminoácidos não-proteinogénicos em análogos peptídicos. Alguns desses aminoácidos não-naturais são os desidroaminoácidos e os *N*-alquilaminoácidos.

Os desidroaminoácidos têm um papel importante em muitos processos biológicos e a sua presença em alguns desidropéptidos parece estar associada a actividade biológica dos mesmos.

A introdução de *N*-alquilaminoácidos em péptidos biologicamente activos, em particular a *N*-metilação resultou em análogos com melhores propriedades farmacológicas como consequência das modificações conformacionais.^[62, 42]

Desta forma, este trabalho pretende dar um contributo na síntese de novos aminoácidos não-naturais que incorporam, simultaneamente, as características de *N*-alquilaminoácidos e desidroaminoácidos, e que poderão ser aplicados na síntese de péptidos com possível acção farmacológica. Para isso, inicialmente, prepararam-se esteres metílicos de *N*-Nosil, *N*-etil-desidroaminoácidos, a partir de esteres metílicos de *N*-Nosil, β -hidroxiaminoácidos por uma sequência de desidratação (pirocarbonato *tert*-butilo e *N,N*-dimetilaminopiridina) e *N*-etilação (tetrafluoroborato de trietiloxónio e de *N,N*-diisopropiletilamina) (Esquema 9). Posteriormente, e utilizando os mesmos métodos, sintetizou-se *N*-etil-desidroaminoácidos β -halogenados com diferentes grupos protectores da função amina. Alguns destes derivados de *N*-etil-desidroaminoácidos β -halogenados foram usados em reacções de acoplamento de Suzuki com ácido fenilborónico (Esquema 9).



P = Nosil, a; Z(NO₂), b; Z, c; Boc, d; Tos, e; 2-Fur, f; Bz(4-OMe) g.

Esquema 9. Síntese de derivados de *N*-etil- α,β -desidroaminoácidos.

Em seguida, e por substituição da *N,N*-diisopropiletilamina por *tert*-butoxido de potássio, prepararam-se esteres metílicos de *N*-etildesidroaminoácidos com diferentes grupos protectores da função amina, que foram usados para preparar dipeptidos contendo resíduos de *N*-etildesidroaminoácidos (Esquema 9).

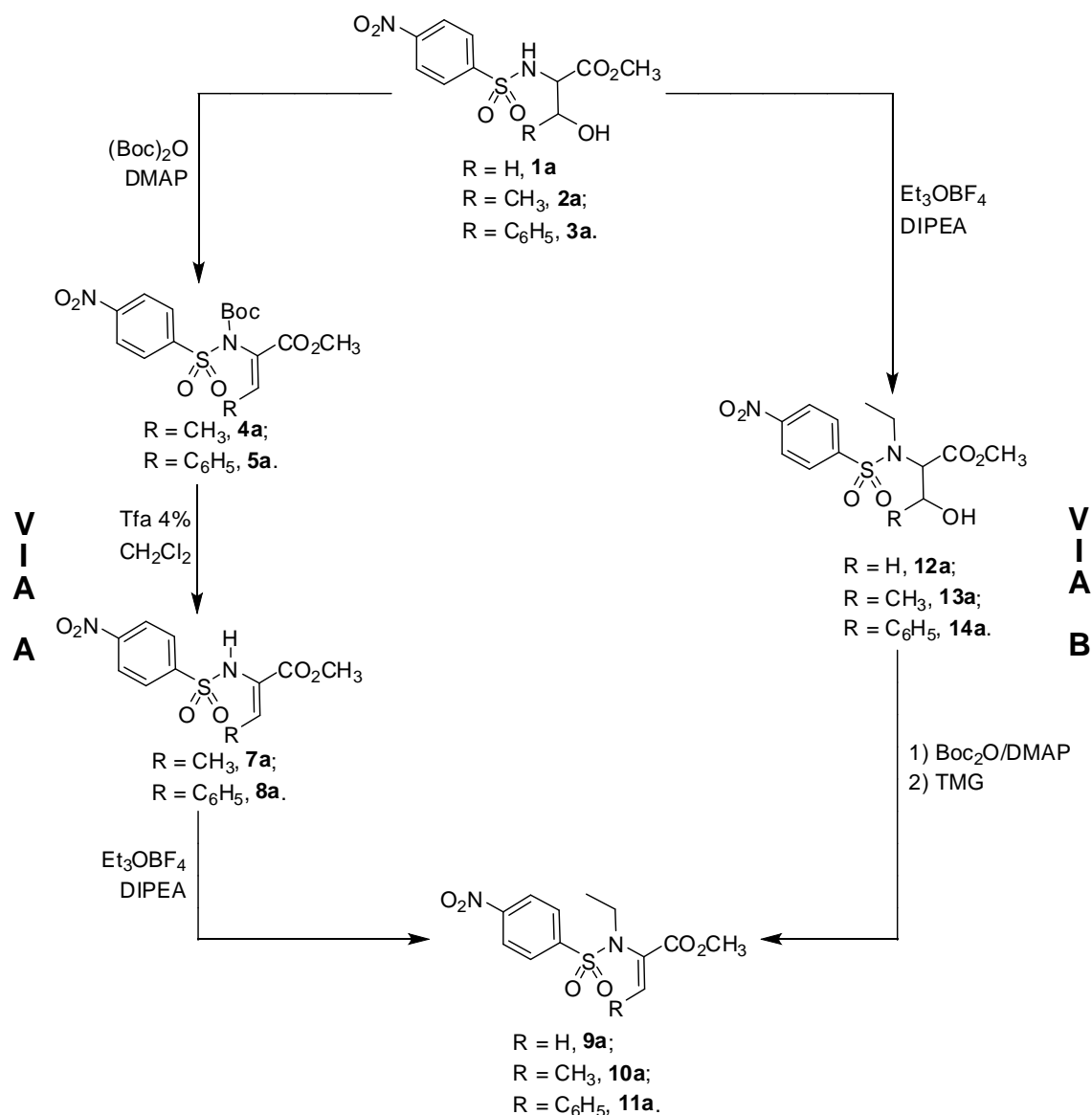
2.1. Síntese dos esteres metílicos de *N*-(4-nitrobenzenesulfonil), *N*-etildesidroaminoácidos.

Ligouri *et al.* usando como agente alquilante o tetrafluoroborato de trietiloxónio na presença de *N,N*-diisopropiletilamina preparam diversos derivados *N*-etilados de *N*-Nosilaminoácidos. No caso dos aminoácidos com a cadeia lateral funcionalizada, a metodologia proposta requer a protecção da cadeia lateral.^[56] Baseado neste estudo, foi decidido estudar a possibilidade de aplicar o método acima descrito com o objectivo de obter desidroaminoácidos *N*-etilados a partir de derivados *N*-Nosil de β -hidroxiaminoácidos. Para evitar a necessidade da protecção da cadeia lateral e a sua subsequente desprotecção, a primeira abordagem para a síntese de derivados de *N*-etil- α,β -desidroaminoácidos foi um procedimento em duas etapas, sendo a primeira a desidratação seguida da reacção de alquilação (via A, Esquema 10). Por conseguinte, a função amina dos β -hidroxiaminoácidos serina, treonina e fenilserina foi protegida com o grupo Nosilo por reacção dos respectivos esteres metílicos com cloreto de 4-nitrobenzenesulfonilo, obtendo-se os compostos **1a-3a** com óptimos rendimentos (Esquema 10).

Para a reacção de desidratação, inicialmente, fez-se reagir os compostos **1a-3a** com 1,0 equiv. de pirocarbonato de *tert*-butilo usando DMAP como catalisador, seguido de tratamento com TMG^[36]. No entanto, através deste método obteve-se uma mistura complexa resultante da *tert*-butoxicarbonilação da função sulfonamida e também da função hidroxilo. Deste modo, em alternativa fez-se a reacção com 2,0 equiv. de pirocarbonato de *tert*-butilo.^[63] No caso da reacção dos compostos **2a** e **3a**, os correspondentes derivados de *N*-(*tert*-butoxicarbonilo)-*N*-(4-nitrofenilsulfonilo)- α,β -desidroaminoácidos foram obtidos (compostos **4a** e **5a**, Esquema 10, Tabela 1). O espectro de RMN de ¹H do composto **4a** indicou a formação da ligação dupla entre o

carbono- α e o carbono- β devido ao quarteto do próton β CH (δ 7,35 ppm) e o duplete do γ CH₃ (δ 2,05 ppm). Para o composto **5a** foi possível verificar o desaparecimento do duplo duplete correspondente aos prótons β CH da β -hidroxifenilalanina para surgir um singlete (δ 7,93 ppm) correspondente ao próton β CH da desidrofenilalanina.

Os espectros de RMN de ^{13}C associado as técnicas bidimensionais HMQC e HMBC permitiram fazer a atribuição inequívoca de todos os carbonos dos compostos **4a** e **5a**.



Esquema 10. Síntese de derivados de *N*-etil- α,β -desidroaminoácidos a partir dos esteres metílicos de *N*-(4-nitrofenilsulfonilo)- β -hidroxiaminoácidos.

Tabela 1. Rendimentos obtidos na síntese dos esteres metílicos de *N*-etil-*N*-(4-nitrofenilsulfonilo)- α,β -desidroaminoácidos.^[a]

| Composto | η % | Composto | η % | Composto | η % |
|-----------|-------------|-----------|-------------|------------|-------------|
| 4a | 81 | 7a | 84 | 10a | 70 |
| 5a | 99 | 8a | 83 | 11a | 78 |

[a] Via A (esquema 10).

No caso do composto **1a** o produto maioritário obtido foi *N*-(*tert*-butoxicarbonilo)- β -(4-nitrofenilsulfonilo)- α,β -desidroserina,^[64] pelo que a obtenção do produto pretendido teve que seguir uma via sintética alternativa que será descrita adiante.

A introdução do grupo do *tert*-butoxicarbonilo torna necessária uma etapa de desprotecção previamente à alquilação. Deste modo, os compostos **4a** e **5a** foram tratados com uma solução a 4% de ácido trifluoroacético (TFA) em diclorometano para dar os compostos **7a** e **8a** com elevado rendimento (84% e 83%, respectivamente). A formação dos compostos foi confirmada pela análise do espectro de protão, uma vez que foi possível identificar o singlete relativo ao NH a δ 6,18 ppm para o composto **7a** e a δ 6,33 ppm para o composto **8a**.

Os derivados de *N*-Nosil- α,β -desidroaminoácidos (**7a** e **8a**) foram sujeitos a *N*-etilação de acordo com as condições propostas por Liguori *et al.*^[56] [2,5 equiv. de tetrafluoroborato de trietiloxónio e 3,5 equiv. de *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA) em diclorometano seco] para obter o correspondente derivado de *N*-etil-*N*-Nosil- α,β -desidroaminoácido com bons rendimentos (compostos **10a** e **11a**, Esquema 10, Tabela 1).

A formação dos compostos **10a** e **11a** foi confirmada pelos espectros de RMN (^1H e ^{13}C). Os RMN de ^1H apresentavam, para além dos restantes sinais, os tripletos ($J = 7,2$ Hz) correspondentes aos protões CH_2CH_3 (δ 1,14 ppm **10a**; δ 1,08 ppm **11a**) e os dois singletos largos referentes a cada um dos protões CH_2CH_3 (δ 3,18 e 3,73 ppm **10a**; δ 3,46 e 3,77 ppm **11a**). É de salientar ainda, para o composto **10a**, o duplete de γCH_3 (δ 2,05 ppm) e o quarteto de βCH (δ 7,39 ppm). Para o composto **11a** os protões do β -fenil, juntamente com o sinal do protão βCH que surgem como dois multipletos (δ 7,43–7,45 ppm e δ 7,88–7,90 ppm).

Nos espectros de ^{13}C é de salientar os carbonos do grupo etilo, designadamente CH_3 (δ 13,97 ppm **10a**; δ 13,32 ppm **11a**) e CH_2 (δ 44,49 ppm **10a**; δ 44,70 ppm **11a**).

De maneira a evitar a etapa de remoção do grupo *tert*-butoxicarbonilo necessária na via A, tentou-se uma estratégia alternativa, em que a alquilação precede a desidratação (via B, Esquema 10). Por conseguinte, os compostos **1a-3a** foram tratados, sem qualquer protecção da cadeia lateral, com 1,0 equiv. de tetrafluoroborato de trietiloxónio e 3,5 equiv. de DIPEA sob atmosfera inerte. Felizmente, a reacção foi regioselectiva dando com elevados rendimentos (entre 92 e 94%) os correspondentes derivados de *N*-Nosil-*N*-etil- β -hidroxiaminoácidos (compostos **12a-14a**, Esquema 10, Tabela 2).

Tabela 2. Rendimentos obtidos na síntese dos esteres metílicos de *N*-etil-*N*-(4-nitrofenilsulfonilo)- α,β -desidroaminoácidos.^[a]

| Composto | η % | Composto | η % |
|------------|-------------|------------|-------------|
| 12a | 92 | 9a | 73 |
| 13a | 94 | 10a | --- |
| 14a | 92 | 11a | 62 |

[a] Via B (esquema 10).

Pela análise dos espectros de RMN de ^1H foi possível identificar os prótons da *N*-etilação, mais precisamente, o tripleto de NCH_2CH_3 (δ 1,26 ppm **12a** e **14a**; δ 1,32 ppm **13a**) e os multipletos de NCH_2CH_3 [δ 3,17-3,26 ppm (1H) e δ 3,39-3,48 ppm (1H) **12a**; δ 3,26-3,46 ppm (1H) e δ 3,41-3,48 ppm (1H) **13a**; δ 3,47-3,58 ppm (2H) **14a**]; o sinal de αCH (tripleto, δ 4,66 ppm **12a**; duplete, δ 4,47 ppm **13a**; duplete δ 4,81 ppm **14a**).

O espectro de RMN de ^{13}C permitiu atribuir o sinal do carbono NCH_2CH_3 (δ 15,83 ppm **12a**; δ 15,76 ppm **13a**; δ 14,14 ppm **14a**); NCH_2CH_3 (δ 42,48 ppm **12a**; δ 43,20 ppm **13a**; δ 42,01 ppm **14a**); OCH_3 (δ 52,56 ppm **12a**, δ 52,31 ppm **13a**, δ 52,22 ppm **14a**); αCH (δ 61,73 ppm **12a**; δ 65,42 ppm **13a**; δ 65,32 ppm **14a**).

Uma vez confirmada a síntese dos esteres metílicos de *N*-Nosil-*N*-etil- β -hidroxiaminoácidos (**12a-14a**), estes podem agora sofrer desidratação por reacção com 1,0 equiv. de pirocarbonato de *tert*-butilo e 0,1 equiv. de DMAP, seguido de tratamento com TMG. No caso da reacção com os compostos **12a** e **14a** foram obtidos com bons rendimentos, os esteres metílicos de *N*-Nosil, *N*-etil- α,β -desidroaminoácidos (**9a** e **11a**).

Os compostos foram caracterizados recorrendo às técnicas espectroscópicas de RMN (^1H e ^{13}C).

Para o composto **9a**, o qual não foi possível obter pela via A, mas pela via alternativa, o espectro de RMN de ^1H mostrou o desaparecimento do sinal de αCH e a mudança da multiplicidade do sinal de βCH_2 para dois singletos (δ 5,96 e δ 6,54 ppm) indicando a formação da ligação dupla entre os carbonos α e β . Para além destes prótons surgiram também os sinais relativos a alquilação, NCH_2CH_3 como um tripleto (δ 1,16 ppm) e NCH_2CH_3 como um quarteto (δ 3,50 ppm). Também foi possível atribuir os sinais do grupo *Nosilo* e do éster metílico.

O espectro de ^{13}C , com ajuda das técnicas bidimensionais, permitiu atribuir os sinais a todos os carbonos do composto, de salientar NCH_2CH_3 (δ 13,99 ppm), NCH_2CH_3 (δ 44,30 ppm), OCH_3 (δ 52,58) e αCH (δ 134,43 ppm).

O composto **11a** foi possível obtê-lo pelas duas vias, A e B com bons rendimentos (78% e 62%, respectivamente). Os espectros de RMN (^1H e ^{13}C) comprovaram a obtenção do produto pelos dois métodos.

A tentativa de síntese do composto **10a** por desidratação do composto **13a** resultou em prolongado tempo de reacção e misturas complexas, que não permitiram o isolamento do produto desejado.

2.2. Síntese dos esteres metílicos de *N*-acil, *N*-etil-desidroaminoácidos β -halogenados.

Em face dos resultados anteriormente obtidos, decidiu-se tentar a alquilação de desidroaminoácidos com outros grupos protectores da função amina para além do grupo 4-nitrofenilsulfonilo.

Assim, os esteres metílicos de *N*-(*tert*-butiloxycarbonilo)-desidroalanina (Boc- ΔAla -OMe) e *N*-(4-nitrobenziloxy-carbonilo)-desidroalanina [$\text{Z}(\text{NO}_2)$ - ΔAla -OMe] foram sujeitos a *N*-etilação com tetrafluoroborato de trietiloxonio usando DIPEA como base.

No entanto, após várias horas de reacção e adição de um grande excesso de agente alquilante não se detectou qualquer derivado de desidroalanina *N*-etilada.

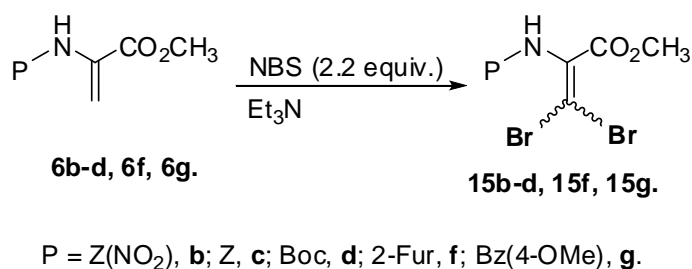
Para tentar explicar a ausência de reacção, determinou-se por RMN o desvio químico do protão NH nos compostos Boc- Δ Ala-OMe e Z(NO₂)- Δ Ala-OMe em soluções de DMSO (δ_{NH} =8,35 ppm e δ_{NH} =9,13 ppm, respectivamente) e comparou-se com um derivado de desidroaminoácido em que a alquilação nas mesmas condições foi completa, tal como o éster metílico do ácido *N*-(4-nitrobenzenesulfonilo) desidroaminobutírico (Nosil- Δ Abu-OMe, δ_{NH} =9,66 ppm). Estes resultados indicam que o efeito fortemente electro-retirador do grupo nitroarilsulfonamida continua a ser essencial para a *N*-etilação, mesmo para os derivados de desidroalanina mais conjugados.

Uma alternativa para o efeito electro-retirador do grupo protector amina, no caso da *N*-alquilação de desidroaminoácidos, poderia ser a presença de um substituinte electro-retirador no carbono- β .

Na literatura estão descritos vários métodos de β -halogenação de derivados de desidroaminoácidos. No nosso laboratório têm sido sintetizados derivados de desidroaminoácidos β -halogenados por reacção de desidroaminoácidos *N*-monoprottegidos com *N*-halosuccinimida para dar a correspondente imina halogenada, que por adição de base (NEt₃) é convertida em derivados de β -halodesidroaminoácidos. Na maior parte dos casos, obtem-se uma mistura de isómeros *E* e *Z* que podem ser separados por cromatografia em coluna. Há um aumento de estereosselectividade para o isómero *Z* na halogenação dos derivados de desidrofenilalanina quando comparado com os correspondentes derivados de desidroalanina e ácido desidroaminobutírico, o que vem corroborar os resultados obtidos por Yamada *et al.*^[65] O ratio de *E/Z* também varia conforme o grupo protector da função amina, verificando-se um aumento de estereosselectividade para o isómero *Z* quando o protector é o grupo Tos. Derivados de desidroaminoácidos β -halogenados podem ser usados, em acoplamentos Suzuki-Miyaura com ácidos aril e heteroarilborónicos para originar novos derivados de desidroaminoácidos.^[35, 66, 67] Assim, foi decidido estudar como a presença de halogenios substituintes no carbono- β afecta a *N*-etilação de derivados de desidroaminoácidos.

Os esteres metílicos de desidroalanina *N*-protegidos com os grupos 4-nitrobenziloxicarbonilo [Z(NO₂)], benziloxicarbonilo (Z), *tert*-butiloxicarbonilo (Boc), 2-furanoilo (2-Fur) e 4-metoxibenzoilo [Bz(4-OMe)] (compostos **6b-d**, **6f**, **6g**, Esquema 11) foram preparados a partir dos correspondentes esteres metílicos de serina *N*-protegidos, de acordo com o procedimento de desidratação previamente descrito.^[36]

Os derivados de desidroalaninas *N*-protegidos reagiram com 2,2 equiv. de *N*-bromosuccinamida (NBS) seguido de tratamento com trietilamina para dar derivados de β,β-dibromo desidroalaninas *N*-protegidos com rendimentos entre 52% e 86% (compostos **15b-d**, **15f**, **15g**, Esquema 11).^[36]



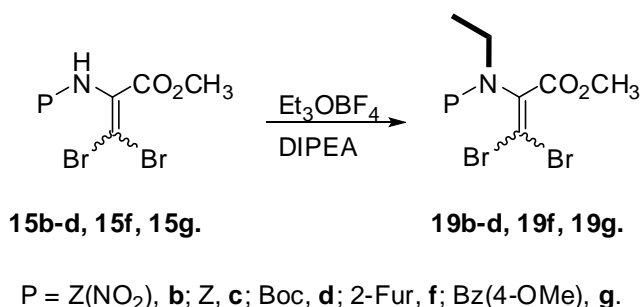
Esquema 11. Síntese de esteres metílicos de *N*-acil, β,β-dibromo desidroalanina.

Os compostos **15b-d**, **15f**, **15g** foram caracterizados pelas técnicas espectroscópicas habituais. Os espectros de RMN de ¹H mostraram a ausência dos sinais característicos dos prótons βCH₂ confirmando a introdução de 2 átomos de bromo no carbono β. Observa-se ainda os sinais esperados para os prótons correspondentes aos grupos protectores aromáticos (δ 6,57-8,25 ppm **15b**, **c**, **f**, **g**), e o sinal dos prótons *tert*-bútílicos do grupo Boc, que aparece a desvio mais baixo (singlete, δ 1,47 ppm **15d**); o singlete do próton NH (δ 6,37-6,62 ppm **15b-d**; δ 7,80 ppm **15f**, δ 7,75 ppm **15g**) e o sinal do éster metílico (singlete δ 3,82-3,92 ppm **15b-d**, **15f**, **15g**).

Os espectros de RMN de ¹³C, associado às técnicas bidimensionais HMQC e HMBC permitiram fazer a atribuição dos sinais a todos os átomos de carbono.

Os compostos **15b-d**, **15f**, **15g** foram sujeitos a *N*-etilação usando as condições previamente estabelecidas por Liguori et. al.^[56] [2,5 equiv. de tetrafluoroborato de trietiloxonio, 3,5 equiv. of *N,N*-diisopropiletilamine (DIPEA) em diclorometano seco]

para dar os correspondentes derivados de *N*-etil β,β-dibromodesidroalaninas, *N*-protegidos (compostos **19b-d**, **19f**, **19g**, Esquema 12, Tabela 3).



Esquema 12. Síntese de esteres metílicos de *N*-acil, *N*-etil, β,β-dibromo desidroalanina.

Tabela 3. Resultados obtidos na *N*-etilação de esteres metílicos de *N*-acil, β,β-dibromo desidroalaninas.

| Reagente | NH ^a (ppm) | Produto | Ratio Prod. /Reag. ^b | η (%) |
|--|--------------------------|---|---------------------------------------|----------|
| Z(NO ₂)-ΔAla(β,β-Br)-OMe, 15b | 9.85 | Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)-ΔAla(β,β-Br)-OMe, 19b | 100/0 | 85 |
| Z-ΔAla(β,β-Br)-OMe, 15c | 9.69 | Z- <i>N</i> (Et)-ΔAla(β,β-Br)-OMe, 19c | 100/0 | 82 |
| Boc-ΔAla(β,β-Br)-OMe, 15d | 9.20 | Boc- <i>N</i> (Et)-ΔAla(β,β-Br)-OMe, 19d | 48/52 | 44 |
| 2-Fur-ΔAla(β,β-Br)-OMe, 15f | 10.16 | 2-Fur- <i>N</i> (Et)-ΔAla(β,β-Br)-OMe, 19f | 82/18 | 80 |
| Bz(4-OMe)-ΔAla(β,β-Br)-OMe, 15g | 10.07 | Bz(4-OMe)- <i>N</i> (Et)-ΔAla(β,β-Br)-OMe, 19g | 64/36 | 47 |

^a Desvio químico do hidrogénio da amida medido em DMSO. ^b Ratio de produto para reagente determinado por RMN de ¹H.

Com os grupos protectores uretano, Z(NO₂) e Z, a reacção foi completa dando os correspondentes derivados de *N*-acil, *N*-etil β,β-dibromodesidroalanina com rendimentos de 85% e 82%, respectivamente (compostos **19b** e **19c**). Com Boc como grupo protector a reacção não foi completa obtendo-se uma mistura de aproximadamente 1/1 de produto e reagente de partida. O produto pôde ser isolado por cromatografia em coluna (composto **19d**). Foram medidos por RMN os desvios químicos em DMSO do protão NH dos compostos **15b-d** (Tabela 3). Os compostos **15b** e **15c** mostraram um desvio químico superior ao do composto **15d**. Pode, assim, estabelecer-se uma correlação entre os desvios químicos do protão ligado ao azoto e os rendimentos da reacção. Assim, os derivados β,β-dibromados da desidroalanina

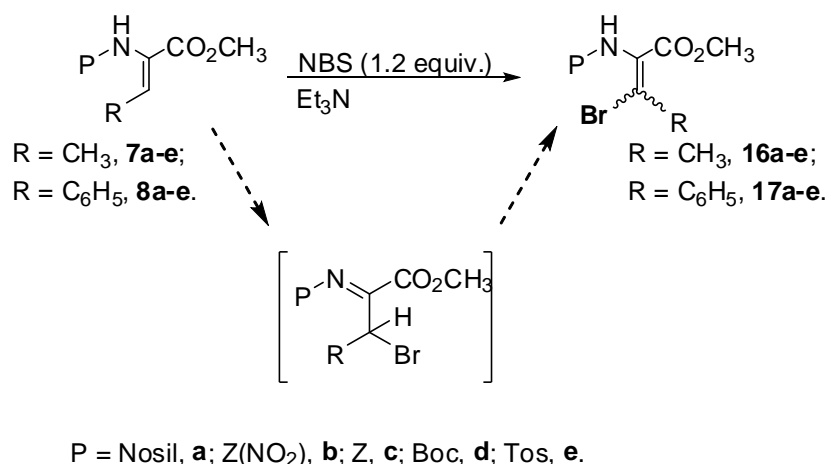
protegidos com grupos mais electro-retiradores, Z(NO₂) e Z, dão reacções completas e com bons rendimentos em produtos *N*-etilados, enquanto que para o derivado da desidroalanina com um grupo protector menos electro-retirador (grupo Boc) a reacção não é completa.

Para derivados de β,β-dibromodesidroalanina protegidos com os grupos acilo, 2-furanoilo e 4-metoxibenzoílo (compostos **15f** e **15g**) a reacção de *N*-etilação foi também incompleta, mas o produto pretendido pôde ser isolado após cromatografia em coluna (compostos **19f** e **19g**) Para a reacção com o composto **15f** o ratio obtido foi, aproximadamente, 8/2 de produto para reagente, enquanto que para o **15g** o ratio foi de aproximadamente 6/4. Estes ratios podem ser correlacionados com o desvio químico dos prótons de azoto que são 10.16 ppm e 10.07 ppm para os compostos **15f** e **15g**, respectivamente.

Os compostos foram caracterizados com base nas técnicas espectroscópicas de RMN (¹H e ¹³C), sendo possível verificar a formação de rotómeros devido à rigidez características destes compostos induzida pela presença do grupo *N*-etilo. A partir da análise de RMN de ¹H foi possível identificar na zona alifática o grupo etilo resultante da alquilação, isto é, o tripleto (*J* = 7,2 Hz) correspondente ao NCH₂CH₃ (δ 1,18-1,27 ppm **19b-d**, **19f**, **19g**) e o quarteto relativo a NCH₂CH₃ (δ 3,50-3,69 ppm **19b-d**, **19f**, **19g**) para além dos sinais pertencentes aos grupos protectores e ao éster metílico.

Os espectros de RMN de ¹³C, recorrendo as técnicas bidimensionais HMQC e HMBC permitiram atribuir todos os carbonos dos compostos, a destacar CH₂CH₃ (δ 12,64-13,05 ppm **19b-d**, **19f**, **19g**) e CH₂CH₃ (δ 42,96-44,11 ppm **19b-d**, **19f**, **19g**).

Os resultados obtidos na *N*-alquilação de derivados β,β-dibromodesidroalanina levou-nos a tentar alargar esta metodologia a outros derivados de desidroaminoácidos, nomeadamente, β-bromo desidroaminoácidos β-substituídos. Uma vez que derivados β,β-dibromodesidroalanina *N*-protegidos com grupos protectores do tipo uretano deram os melhores resultados na *N*-alquilação, foram preparados esteres metílicos de treonina e fenilserina protegidos com Z(NO₂), Z e Boc e também com derivados de sulfonilo fortemente electro-retiradores, 4-nitrobenzenesulfonilo (Nosilo) e 4-toluenosulfonilo (Tos) (Esquema 13).



Esquema 13. Síntese de ésteres metílicos de *N*-acil, β-bromodesidroaminoácidos β-substituídos.

Com a exceção dos derivados protegidos com o grupo Nosilo, os compostos foram sujeitos à desidratação com 1,0 equiv. de pirocarbonato de *tert*-butilo,^[36] para dar derivados *N*-protegidos do ácido desidroaminobutírico e da desidrofenilalanina (compostos **7b-e**, **8b-e**, Esquema 13). Para os derivados Nosilo, a desidratação teve que ser realizado com 2 equiv. de pirocarbonato de *tert*-butilo para obter o correspondente derivado *N*-Boc, *N*-Nosil do desidroaminoácido, seguido do tratamento com uma solução de ácido trifluoroacético, 4% em diclorometano para dar os compostos **7a** e **8a**.^[68]

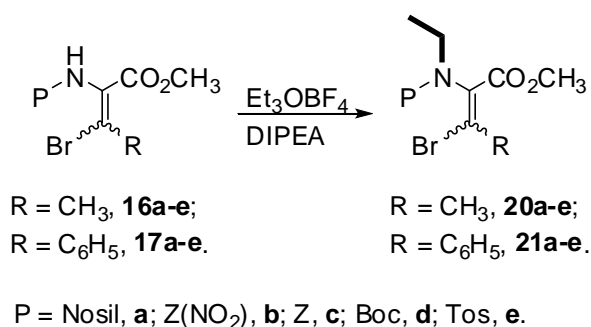
Fizeram-se reagir os derivados de desidroaminoácidos com 1,2 equiv. de *N*-bromosuccinimida (NBS) seguido de tratamento com trietilamina para dar derivados *N*-protegidos do ácido β-bromodesidroaminobutírico e da β-bromodesidrofenilalanina (compostos **16a-e**, **17a-e**, Esquema 13).

Os compostos sintetizados foram caracterizados recorrendo às técnicas espectroscópicas habituais. Os espectros de RMN de ¹H dos derivados de ΔAbu mostraram os sinais esperados para os prótons de γCH₃ como singletos (δ 2,41-2,60 ppm **16a-e**), os prótons de NH (singletos, δ 6,00-6,52 ppm **16a-e**), o pico característico de éster metílico, OCH₃ (δ 3,77-3,83 ppm **16a-e**) para além dos restantes sinais correspondentes aos grupos protectores. Nos espectros de RMN de ¹³C dos compostos **16a-e** destacam-se os sinais do carbono γCH₃ (δ 24,43-26,18 ppm) e do OCH₃ do éster (δ 52,19-52,96 ppm), e os outros sinais atribuíveis aos compostos. A análise dos espectros de RMN de ¹H dos derivados da desidrofenilalanina mostrou o singlete

relativo aos prótons OCH_3 (δ 3,51-3,58 ppm **17a-e**). Na zona aromática apareceram os 5 prótons de γPhe ; para o composto **17a** na forma de dois multipletos (δ 7,24-7,26 ppm, 2H e δ 7,33-7,38 ppm, 3H); para **17b** e **17d** como singletos (δ 7,35 ppm e δ 7,34 ppm, respectivamente) e para **17c** e **17e**, juntamente com os prótons dos respectivos grupos protectores da amina, como multipletos a δ 7,33-7,39 ppm e δ 7,22-7,38 ppm, respectivamente. É de destacar ainda o facto de desaparecer o sinal relativo ao próton βCH . Pela análise dos espectros de RMN de ^{13}C foi possível atribuir todos os sinais de carbono aos compostos.

A estereoquímica dos desidroaminoácidos β -substituídos foi determinada por NOE, irradiando os prótons αNH e OCH_3 e observando o efeito nos prótons β -metil ou β -fenil.

Os derivados β -bromados dos desidroaminoácidos β -substituídos foram sujeitos a *N*-etilação em condições idênticas às descritas anteriormente para os derivados de β,β -dibromodesidroalaninas (Esquema 14).



Esquema 14. Síntese de esteres metílicos de *N*-acil, *N*-etil, β -bromo desidroaminoácidos β -substituídos.

A *N*-etilação de derivados do ácido desidroaminobutírico protegidos com $\text{Z}(\text{NO}_2)$ e Z (compostos *E*-**16b**, *Z*-**16b** e *Z*-**16c**) não foi completa, contrariamente ao que ocorre com os derivados β,β -dibromados da desidroalanina protegidos com os mesmos grupos protectores (compostos **15b** e **15c**). Contudo, o produto *N*-etilado pôde ser isolado por cromatografia em coluna. Foram medidos os desvios químicos do próton NH dos compostos *E*-**16b**, *Z*-**16b** e *Z*-**16c** em DMSO (Tabela 4).

Tabela 4. Resultados obtidos na *N*-etilação de esteres metílicos de *N*-acil, β -bromo desidroaminoácidos β -substituídos.

| Reagente | δ NH ^a (ppm) | Produto | Ratio Prod./Reag ^b | η (%) |
|--|-----------------------------------|--|----------------------------------|---------------|
| Nosil-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe, Z-16a | 10.24 | Nosil- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe, Z-20a | 100/0 | 93 |
| Z(NO ₂)- <i>E</i> - Δ Abu(β -Br)-OMe, E-16b | 9.58 | Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)- <i>E</i> - Δ Abu(β -Br)-OMe E-20b | 80/20 | 75 |
| Z(NO ₂)-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe, Z-16b | 9.42 | Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe, Z-20b | 37/63 | 33 |
| Z-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe, Z-16c | 9.26 | Z- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe, Z-20c | 43/57 | 40 |
| Boc-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe, Z-16d | 9.01 | Boc- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe, Z-20d | 0/100 | -- |
| Tos-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe, Z-16e | 9.69 | Tos- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe, Z-20e | 100/0 | 78 |
| Nosil-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe, Z-17a | 10.66 | Nosil- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe, Z-21a | 100/0 | 90 |
| Z(NO ₂)-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe, Z-17b | 9.82 | Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe, Z-21b | 45/55 | 30 |
| Z-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe, Z-17c | 9.65 | Z- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe, Z-21c | 38/62 | 36 |
| Boc-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe, Z-17d | 9.15 | Boc- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe, Z-21d | 15/85 | -- |
| Tos-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe, Z-17e | 10.08 | Tos- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe, Z-21e | 100/0 | 89 |

^a Desvio químico do hidrogénio da amida medido em DMSO. ^b Ratio de produto para reagente determinado por RMN de ¹H.

É possível observar que a substituição de um átomo de bromo na posição β do desidroaminoácido por um grupo metilo reduz o desvio químico do protão NH. A comparação dos desvios químicos mostrou que o isómero *E* apresenta um desvio químico superior ao isómero *Z*. Efectivamente, para o composto **E-16b** o ratio entre produto e reagente foi de 8/2, enquanto que para **Z-16b** foi, aproximadamente, 4/6. Para o derivado do ácido desidroaminobutírico protegido com Boc (composto **Z-16d**) não se verificou a *N*-etilação. O desvio químico do protão NH é significativamente menor do que para o protão NH dos derivados do ácido desidroaminobutírico protegidos com Z(NO₂) e *Z* e também menor do que para o derivado de *N*-Boc β,β -dibromodesidroalanina.

Ambos os derivados *N*-sulfonamida do ácido desidroaminobutírico (compostos **Z-16a** e **Z-16e**) mostraram um elevado desvio químico para os seus protões NH e de facto

as reacções de *N*-etilação foram completas, dando os produtos *N*-etilados (compostos **Z-20a** e **Z-20e**, Esquema 14) com rendimentos de 93% e 78%, respectivamente.

Os compostos foram caracterizados recorrendo às técnicas espectroscópicas de RMN (^1H e ^{13}C) sendo possível verificar pela análise dos espectros a formação de rotómeros resultante da rigidez conferida pela presença do grupo *N*-etilo. Os espectros de RMN de ^1H apresentavam os tripletos ($J = 7,2$ Hz) correspondentes aos prótons CH_2CH_3 (δ 1,23 ppm **20a**; δ 1,19 ppm *E-20b*; δ 1,19 e 1,22 ppm *Z-20b*; δ 1,19 e 1,20 ppm **20c**), o sinal dos prótons γCH_3 como singletos (δ 2,85 ppm **20a**; δ 2,42 ppm *E-20b*; δ 2,85 e 2,86 ppm *Z-20b*; δ 2,84 e 2,85 ppm **20c**; δ 2,82 ppm **20e**), e na forma de quarteto ou multipletto largo aparecem o sinal dos prótons CH_2CH_3 (δ 3,58 ppm **20a**; δ 3,49 ppm *E-20b*; δ 3,55 e 3,48 ppm *Z-20b*; δ 3,52 ppm **20c**; δ 3,46 ppm **20e**), assim como os restantes sinais (Figura 6).

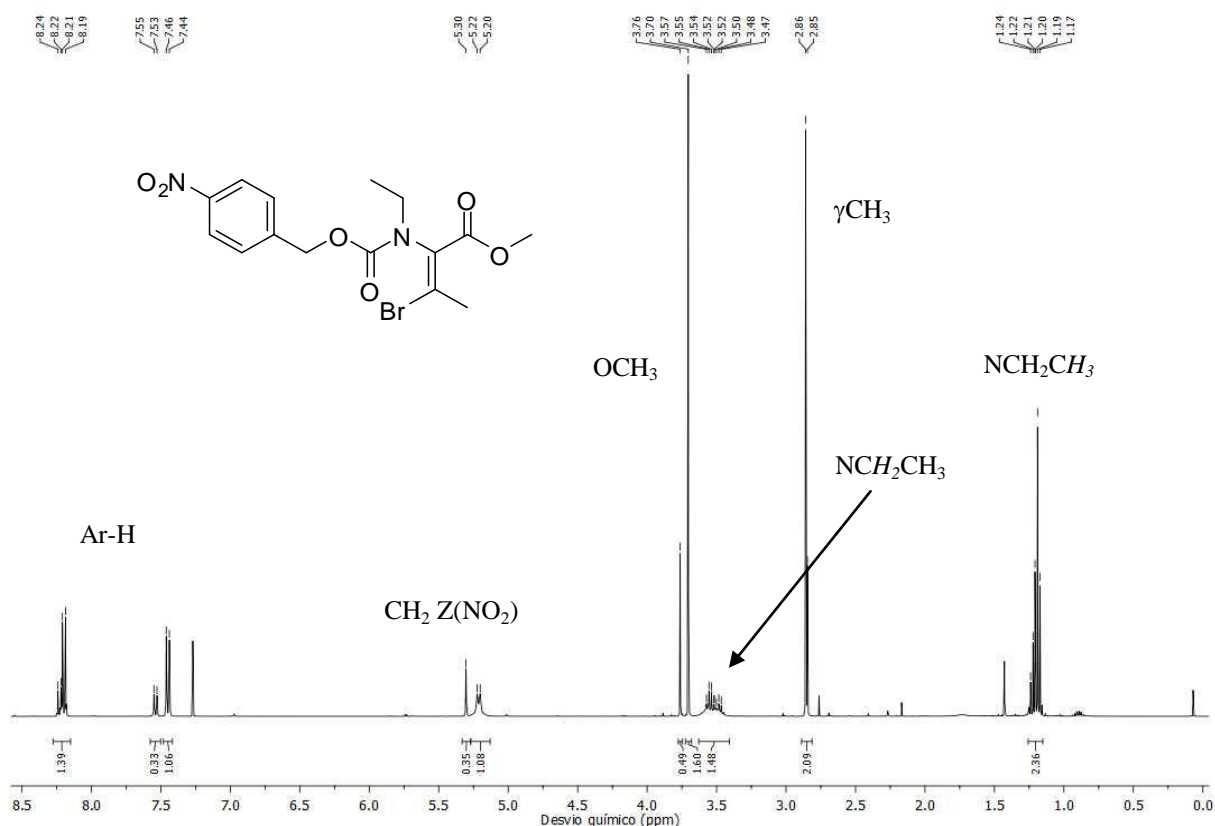


Figura 6. Espectro de RMN de ^1H , a 400MHz em CDCl_3 , de $\text{Z}(\text{NO}_2)$ -*N*(Et)-*Z*- $\Delta\text{Abu}(\beta\text{-Br})\text{-OMe}$, composto **Z-20b**.

A confirmação da reacção de alquilação também foi evidente por espectroscopia de RMN de ^{13}C , surgindo os sinais do grupo etilo, CH_2CH_3 a δ 12,84 ppm *E-20b*; δ 12,83,

13,64 ppm **Z-20b**; δ 12,91, 13,64 ppm **20c**; δ 13,82 ppm (**20a**) e δ 13,79 ppm (**20e**); CH_2CH_3 a δ 45,20 ppm (**20a**), δ 44,43 ppm (**E-20b**), δ 44,17 e 44,31 ppm (**Z-20b**), δ 43,95 e 44,19 ppm (**20c**) e a δ 44,63 ppm (**20e**).

A *N*-etilação dos derivados de desidrofenilalanina protegidos com $\text{Z}(\text{NO}_2)$ e *Z* (compostos **Z-17b** e **Z-17c**) não foi completa. Mesmo assim o produto *N*-etilado pôde ser isolado por cromatografia em coluna. Os desvios químicos do próton NH em DMSO nos compostos **Z-17b** e **Z-17c** (δ 9,82 e δ 9,65 ppm) mostraram ser superiores aos correspondentes derivados do ácido desidroaminobutírico (**Z-16b** e **Z-16c**). Isto é, nos derivados β -bromados da desidrofenilalanina o próton ligado ao azoto é mais ácido o que está de acordo com o efeito electro-retirador do anel β -fenil oposto ao efeito electro-dador do grupo metil nos compostos β -bromados do ácido desidroaminobutírico. Logo, seria de prever que o ratio de produto para reagente na *N*-etilação fosse superior para os derivados de desidrofenilalanina β -bromados quando comparado com os correspondentes derivados de ácidos desidroaminobutírico. No entanto, verificou-se que o ratio de derivado *N*-etilado de desidrofenilalanina para reagente de partida é comparável aos obtidos a partir dos correspondentes derivados do ácido β -bromo desidroaminobutírico. Tais resultados podem ser justificados pela possibilidade da maior conjugação nos derivados de desidrofenilalanina contra-balançar a maior acidez do próton NH nas reacções de *N*-etilação. Para o derivado *N*-Boc (composto **Z-21d**) obteve-se um ratio de 15/85 de produto para reagente, no entanto, não foi possível isolar o produto por cromatografia.

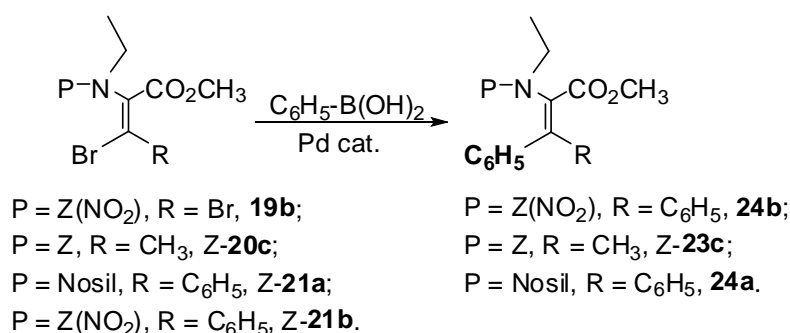
A *N*-etilação dos derivados *N*-sulfonamida da desidrofenilalanina (compostos **Z-17a** e **Z-17e**) foi completa, obtendo-se os compostos **Z-21a** e **Z-21e** com rendimentos de 90% e 89%, respectivamente (Esquema 14).

Pela análise dos espectros de RMN de ^1H foi possível identificar os prótons do grupo *N*-etilo, mais concretamente o tripleto dos prótons NCH_2CH_3 (δ 1,37 ppm **21a**; δ 1,33 e 1,37 ppm **21b**; δ 0,90 e 1,32 ppm **21c**; δ 1,33 ppm **21e**) e o sinal dos prótons de NCH_2CH_3 (δ 3,66 ppm **21a**; δ 3,68-3,75 ppm **21b**; δ 3,72 ppm **21c**; δ 3,62 ppm **21e**). Os espectros de RMN de ^{13}C , recorrendo as técnicas bidimensionais HMQC e HMBC permitiram atribuir todos os carbonos dos compostos, de salientar os carbonos correspondentes a *N*-etilação, CH_2CH_3 (δ 14,06 ppm **21a**; δ 13,13, 13,97 ppm **21b**; δ

13,19, 14,08 ppm **21c**; δ 14, 00 ppm **21e**) e CH_2CH_3 (δ 44,74 ppm **21a**; δ 43,85, 44,15 ppm **21b**; δ 43,54, 43,99 ppm **21c**; δ 44.11 ppm **21e**).

2.3. Acoplamento de Suzuki-Miyaura com o ácido fenilborónico de esteres metílicos de *N*-acil, *N*-etil, β,β -dibromodesidroalaninas e de *N*-acil, *N*-etil, β -bromo desidroaminoácidos β -substituídos.

Com o intuito de demonstrar a aplicabilidade dos derivados de *N*-etil, β -bromo desidroaminoácidos como substratos para a síntese de novos desidroaminoácidos *N*-etilados, os compostos **19b**, **Z-20c**, **Z-21b** e **Z-21a** foram feitos reagir com o ácido fenilborónico sob condições de acoplamento Suzuki-Miyaura (Esquema 15).



Esquema 15. Acoplamento de Suzuki-Miyaura com o ácido fenilborónico de esteres metílicos de *N*-acil, *N*-etil, β,β -dibromodesidroalaninas e de *N*-acil, *N*-etil, β -bromo desidroaminoácidos β -substituídos.

Tabela 5. Resultados obtidos no acoplamento de Suzuki-Miyaura com o ácido fenilborónico de esteres metílicos de *N*-acil, *N*-etil, β,β -dibromodesidroalaninas e de *N*-acil, *N*-etil, β -bromo desidroaminoácidos β -substituídos.

| Reagente | Produto | η (%) |
|--|--|---------------|
| Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)- Δ Ala(β,β -Br)-OMe, 19b | Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)- Δ Phe(β -C ₆ H ₅)-OMe, 24b | 81 |
| Z- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe, Z-20c | Z- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Abu(β -C ₆ H ₅)-OMe, Z-23c | 50 |
| Nosil- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe, Z-21a | Nosil- <i>N</i> (Et)- Δ Phe(β -C ₆ H ₅)-OMe, 24a | 95 |
| Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe, Z-21b | Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)- Δ Phe(β -C ₆ H ₅)-OMe, 24b | 63 |

Os correspondentes derivados de *N*-etil, β -fenil, desidroaminoácidos β -substituídos foram obtidos com rendimentos entre bons e elevados (compostos *Z*-**23c**, **24a**, **24b**, Esquema 15, Tabela 5).

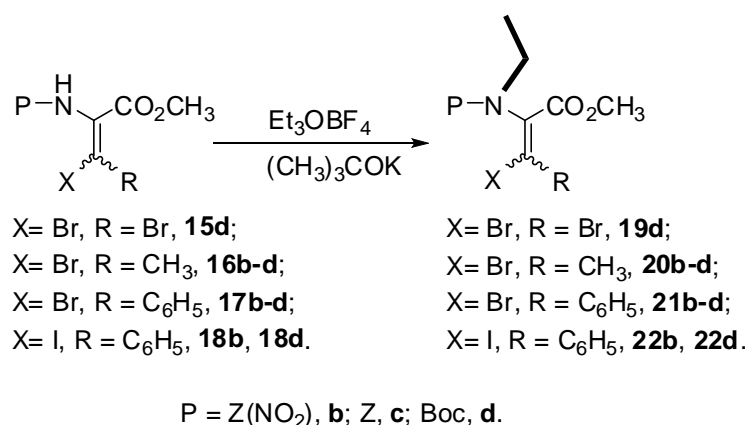
Os compostos foram caracterizados recorrendo às técnicas espectroscópicas habituais (RMN de ^1H e ^{13}C) e verificou-se a formação de rotómeros resultante da rigidez conferida pela presença do grupo *N*-etilo. Pela análise do espectro de RMN de ^1H é possível verificar o tripleto de NCH_2CH_3 relativo ao grupo *N*-etilo [δ 1,03 ppm **24a**, 0,85 ppm (2t) *Z*-**23c**, δ 1,00 ppm **24b**], no caso de *Z*-**23c**, de destacar os dois singletos dos prótons γCH_3 (δ 2,46 ppm) e o sinal dos prótons do anel β -fenil, que surge juntamente com os prótons do grupo protector, (δ 7,28-7,39 ppm), os derivados de desidrofenilalanina mostraram o sinal dos prótons β -fenil na forma de multipletos (δ 7,12-7,16 ppm e δ 7,30-7,37 ppm **24a**; δ 7,06-7,11 ppm e δ 7,34-7,37 ppm **24b**). Os espectros de ^{13}C , com ajuda das técnicas bidimensionais, permitiram atribuir os sinais de todos os carbonos dos compostos.

2.4. Síntese dos esteres metílicos de *N*-acil, *N*-etildesidroaminoácidos β -halogenados substituindo DIPEA por *tert*-butóxido de potássio como base.

Uma alternativa ao uso dos grupos fortemente electro-retiradores, que aumentam a acidez do próton NH e que permitem a *N*-etilação dos derivados de aminoácidos, pode ser o uso de uma base forte. No caso de aminoácidos, uma base forte vai induzir racemização e desta forma limitar a aplicabilidade do produto obtido. Com desidroaminoácidos, este problema não se verifica, de maneira que testou-se a substituição de DIPEA por uma base mais forte, *tert*-butóxido de potássio, como auxiliar na *N*-etilação dos derivados de desidroaminoácidos com tetrafluoroborato de trietiloxónio.

Inicialmente, o éster metílico do ácido *N*-(*tert*-butiloxicarbonilo), β -bromo, desidroaminobutírico [Boc- Δ Abu(β -Br)-OMe], para o qual não se observou *N*-etilação usando a base fraca *N,N*-diisopropiletilamina, foi sujeito a tratamento com 2,5 equiv. de tetrafluoroborato de trietiloxónio na presença de 3,5 equiv. de *tert*-butóxido de potássio.

Nestas condições, a reacção foi completa em, aproximadamente, 30 min permitindo isolar o derivado *N*-etilado do desidroaminoácido com 84% de rendimento. Face a este resultado, todos os outros substratos que previamente não tinham dado reacção, ou em que a reacção de alquilação foi incompleta usando como base DIPEA, foram sujeitos a etilação usando *tert*-butóxido de potássio como base. Assim, o éster metílico de β,β -dibromo desidroalanina protegido com Boc e os esteres metílicos do ácido β -bromo desidroaminobutírico e da desidrofenilalanina protegidos com Z(NO₂), Z e Boc, fizeram-se reagir com tetrafluoroborato de trietiloxónio utilizando como base *tert*-butóxido de potássio (compostos **15d**, **16b-d**, **17b-d**, Esquema 16, Tabela 6).



Esquema 16. Síntese dos esteres metílicos de *N*-Boc, *N*-etil, β,β -dibromodesidroalanina, de ácido *N*-acil, *N*-etil β -bromo desidroaminobutírico e de *N*-acil, *N*-etil, β -halo desidrofenilalanina.

Para todos os derivados β -bromados dos desidroaminoácidos, a reacção de *N*-etilação foi completa após, aproximadamente, 30 min e o correspondente derivado *N*-etilado pôde ser isolado com elevado rendimento (Tabela 6). Nos dois casos em que os isómeros *E* dos derivados β -bromados de desidroaminoácidos foram sujeitos a *N*-alquilação (compostos *E*-**16b** e *E*-**16d**) obteve-se os derivados *N*-etilados também com rendimentos elevados.

Tabela 6. Resultados obtidos na síntese dos ésteres metílicos de *N*-Boc, *N*-etil, β,β -dibromodesidroalanina, de ácido *N*-acil, *N*-etil β -bromo desidroaminobutírico e de *N*-acil, *N*-etil, β -halo desidrofenilalanina.

| Reagente | Produto | η (%) |
|--|---|---------------|
| Boc- Δ Ala(β,β -Br)-OMe, 15d | Boc- <i>N</i> (Et)- Δ Ala(β,β -Br)-OMe, 19d | 93 |
| Z(NO ₂)- <i>E</i> - Δ Abu(β -Br)-OMe, E-16b | Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)- <i>E</i> - Δ Abu(β -Br)-OMe, E-20b | 94 |
| Z(NO ₂)- <i>Z</i> - Δ Abu(β -Br)-OMe, Z-16b | Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)- <i>Z</i> - Δ Abu(β -Br)-OMe, Z-20b | 82 |
| <i>Z-Z</i> - Δ Abu(β -Br)-OMe, 16c | <i>Z-N</i> (Et)- <i>Z</i> - Δ Abu(β -Br)-OMe, Z-20c | 86 |
| Boc- <i>E</i> - Δ Abu(β -Br)-OMe, E-16d | Boc- <i>N</i> (Et)- <i>E</i> - Δ Abu(β -Br)-OMe, E-20d | 89 |
| Boc- <i>Z</i> - Δ Abu(β -Br)-OMe, Z-16d | Boc- <i>N</i> (Et)- <i>Z</i> - Δ Abu(β -Br)-OMe, Z-20d | 85 |
| Z(NO ₂)- <i>Z</i> - Δ Phe(β -Br)-OMe, 17b | Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)- <i>Z</i> - Δ Phe(β -Br)-OMe, Z-21b | 96 |
| <i>Z-Z</i> - Δ Phe(β -Br)-OMe, 17c | <i>Z-N</i> (Et)- <i>Z</i> - Δ Phe(β -Br)-OMe, Z-21c | 82 |
| Boc- <i>Z</i> - Δ Phe(β -Br)-OMe, 17d | Boc- <i>N</i> (Et)- <i>Z</i> - Δ Phe(β -Br)-OMe, Z-21d | 88 |
| Z(NO ₂)- <i>Z</i> - Δ Phe(β -I)-OMe, 18b | Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)- <i>Z</i> - Δ Phe(β -I)-OMe, Z-22b | 95 |
| Boc- <i>Z</i> - Δ Phe(β -I)-OMe, 18d | Boc- <i>N</i> (Et)- <i>Z</i> - Δ Phe(β -I)-OMe, Z-22d | 95 |

Aplicou-se o mesmo procedimento a dois derivados β -iodados da desidrofenilalanina protegidos com os grupos Z(NO₂) e Boc (compostos **Z-18b** e **Z-18d**), dando os correspondentes derivados *N*-etilados com excelentes rendimentos (Tabela 6).

Todos os compostos sintetizados foram caracterizados por espectroscopia de RMN (¹H e ¹³C). Pela análise dos espectros foi possível ver a formação de rotômeros devido à rigidez característica destes compostos induzida pela presença do grupo *N*-etilo.

Os espectros de RMN de ¹H dos compostos **E-20d**, **Z-20d** e **Z-21d**, cuja síntese não foi possível utilizando como base DIPEA, mostraram na zona alifática os sinais típicos do grupo etilo, os prótons NCH₂CH₃ para **E-20d** apareceram na forma de um multipeto (δ 1,00-1,21 ppm), para **Z-20d** como dois tripletos (δ 1,15 e 1,17 ppm) e para **Z-21d** como um triplete a δ 1,28 ppm; e NCH₂CH₃ como quartetos (δ 3,40 ppm **E-20d** e **Z-20d**; δ 3,63 ppm **Z-21d**). Nos compostos β -iodados também foi possível atribuir os

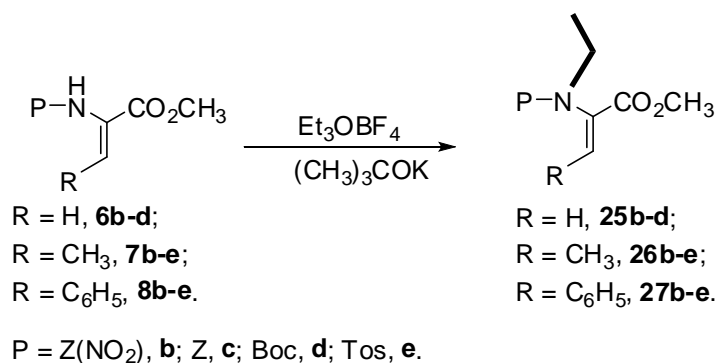
sinais relativos ao grupo *N*-etilo, nomeadamente o tripleto ($J = 7,2$ Hz) correspondente aos prótons NCH_2CH_3 (δ 1,35 ppm **22b**; δ 1,30 ppm **22d**) e aos prótons de NCH_2CH_3 (δ 3,68-3,73 ppm, multiplete, **22b**; δ 3,61 ppm, quarteto, **22d**).

Pela análise de RMN de ^{13}C também foi possível identificar os sinais que comprovam a *N*-etilação e a formação de rotómeros, NCH_2CH_3 (δ 12,98 e 13,47 ppm *E*-**20d**; δ 13,00 e 13,67 ppm *Z*-**20d**; δ 13,29 e 13,99 ppm *Z*-**21d**; δ 13,15 ppm **22b**; δ 13,36 e 14,08 ppm **22d**) e NCH_2CH_3 (δ 43,63 ppm *E*-**20d**; δ 42,99 e 44,35 ppm *Z*-**20d**; δ 42,50 e 44,19 ppm *Z*-**21d**; δ 44,16 e 44,63 ppm **22b**; δ 42,89 e 44,76 ppm **22d**), assim como os restantes sinais atribuíveis aos compostos.

2.5. Síntese dos esteres metílicos de *N*-acil, *N*-etildesidroaminoácidos.

A *N*-etilação usando o procedimento $\text{Et}_3\text{OBF}_4/\text{DIPEA}$ em desidroaminoácidos não-halogenados com outros grupos protectores para além do grupo 4-nitrobenzenesulfonilo tinha sido completamente ineficaz, mesmo após várias horas de reacção e adição de um largo excesso de agente alquilante. Contudo, os resultados obtidos na *N*-etilação dos derivados β -halogenados de desidroaminoácidos usando como base *tert*-butóxido de potássio levou-nos a voltar a tentar a alquilação dos desidroaminoácidos não-halogenados com grupos protectores amina comuns.

Desta forma, os esteres metílicos da desidroalanina (compostos **6b-d**), do ácido desidroaminobutíco (compostos **7b-e**) e da desidrofenilalanina (compostos **8b-e**) protegidos com $\text{Z}(\text{NO}_2)$, *Z*, Boc e Tos foram sujeitos à *N*-etilação com tetrafluoroborato de trietiloxónio usando *tert*-butóxido de potássio como base. Para todos os derivados de desidroaminoácidos a reacção foi completa e os correspondentes derivados *N*-etilados puderam ser isolados com rendimentos elevados (Esquema 17, Tabela 7)

**Esquema 17.** Síntese dos esteres metílicos de *N*-acil, *N*-etil-desidroaminoácidos.**Tabela 7.** Resultados obtidos da *N*-etilação dos esteres metílicos de *N*-acil-desidroaminoácidos.

| Reagente | Produto | η (%) |
|---|---|---------------|
| Z(NO ₂)- Δ Ala-OMe, 6b | Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)- Δ Ala-OMe, 25b | 88 |
| Z- Δ Ala-OMe, 6c | Z- <i>N</i> (Et)- Δ Ala-OMe, 25c | 91 |
| Boc- Δ Ala-OMe, 6d | Boc- <i>N</i> (Et)- Δ Ala-OMe, 25d | 79 |
| Z(NO ₂)-Z- Δ Abu-OMe, Z- 7b | Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Abu-OMe, Z- 26b | 90 |
| Z-Z- Δ Abu-OMe, Z- 7c | Z- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Abu-OMe, Z- 26c | 93 |
| Boc-Z- Δ Abu-OMe, Z- 7d | Boc- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Abu-OMe, Z- 26d | 92 |
| Tos-Z- Δ Abu-OMe, Z- 7e | Tos- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Abu-OMe, Z- 26e | 82 |
| Z(NO ₂)-Z- Δ Phe-OMe, Z- 8b | Z(NO ₂)- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Phe-OMe, Z- 27b | 97 |
| Z-Z- Δ Phe-OMe, Z- 8c | Z- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Phe-OMe, Z- 27c | 90 |
| Boc-Z- Δ Phe-OMe, Z- 8d | Boc- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Phe-OMe, Z- 27d | 92 |
| Tos-Z- Δ Phe-OMe, Z- 8e | Tos- <i>N</i> (Et)-Z- Δ Phe-OMe, Z- 27e | 92 |

A análise dos espectros de RMN de ¹H permitiu identificar todos os prótons dos compostos, sendo de destacar os referentes ao grupo *N*-etilo responsável pela formação de rotômeros. Assim para os derivados de desidroalanina os prótons NCH₂CH₃ surgem como tripletos (δ 1,17-1,19 ppm **25 b-d**) e para NCH₂CH₃ os correspondentes quartetos (δ 3,60 ppm **25b-c**; δ 3,54 ppm **25d**). No caso dos derivados do ácido desidroaminobutírico, NCH₂CH₃ (δ 1,06-1,14 ppm **26b-e**) e NCH₂CH₃ (δ 3,51 ppm **26b**; δ 3,46-3,50 ppm **26c**; δ 3,32 e 3,40 ppm, 2 quartetos **26d**; δ 3,21 e 3,64 ppm, 2 singletos **26e**). Para os derivados da desidrofenilalanina os prótons NCH₂CH₃ aparecem

como tripletos (δ 1,10, 1,21 ppm **27b**; δ 1,07 ppm **27c**; δ 1,04 ppm **27d**; δ 1,03 ppm **27e**) e os prótons NCH_2CH_3 como singletos largos (δ 3,29, 3,47, 3,72 ppm **27b**; δ 3.24,3.40 ppm **27c**; δ 3.10, 3.30, 3.67 ppm **27d**; δ 3.40 ppm **27e** (Figura 7). Os espectros de RMN de ^{13}C , recorrendo as técnicas bidimensionais HMQC e HMBC, permitiram atribuir todos os sinais de carbono aos compostos.

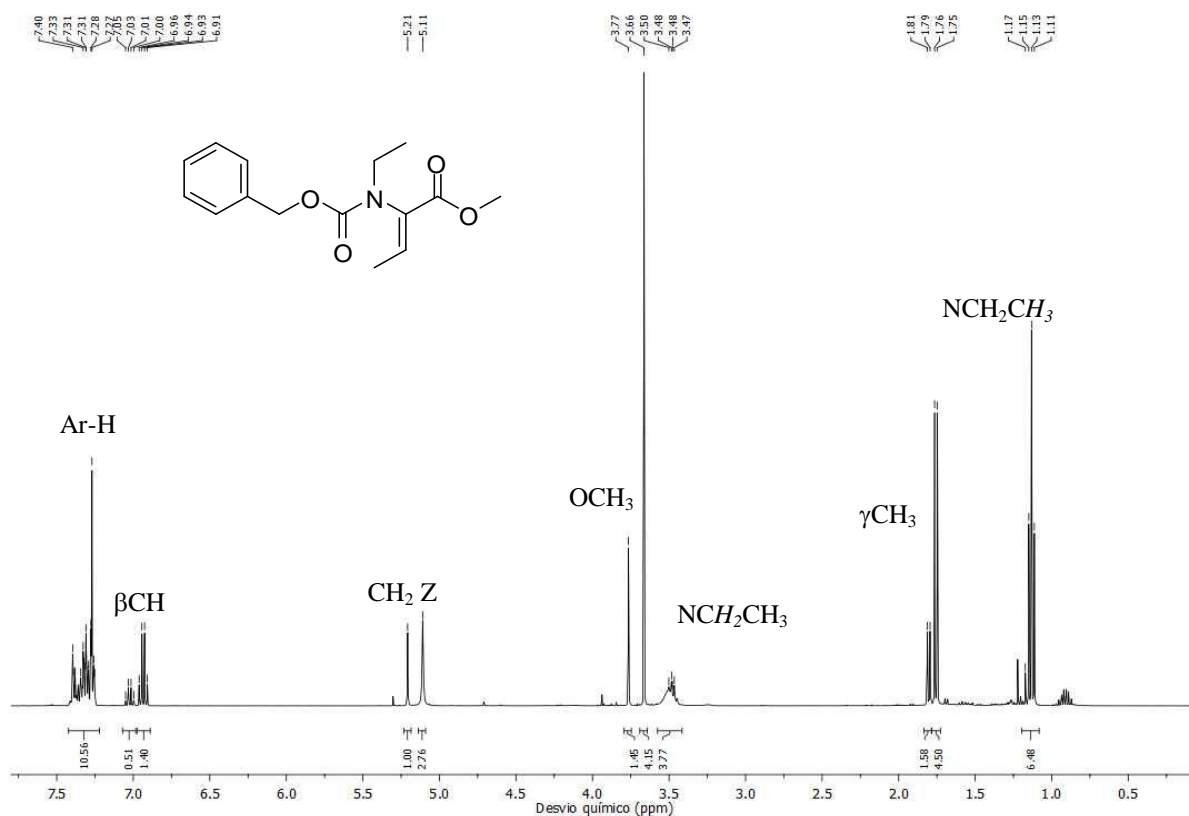


Figura 7. Espectro de RMN de ^1H , a 400 MHz em CDCl_3 , de *Z-N(Et)-Z-ΔAbu-OMe*, **26c**.

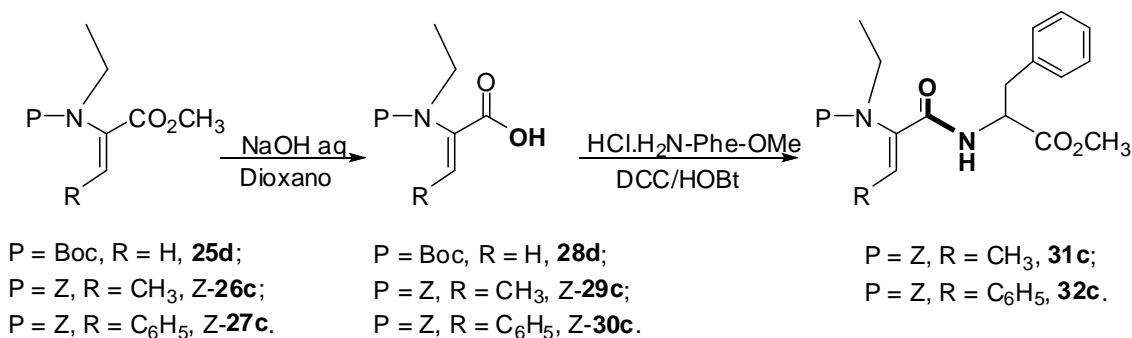
2.6. Síntese dos esteres metílicos de *N*-acil, *N*-etil-desidrodipéptidos.

Pela remoção do grupo protector Nosilo do éster metílico de *N*-Nosil, *N*-etil aminoácidos e re-protecção da função amina com 9-fluorenilmetoxycarbonilo (Fmoc), Liguori demonstrou a compatibilidade do procedimento de *N*-etilação com a metodologia de síntese peptídica usando o grupo protector Fmoc.^[56]

No entanto, a conversão de esteres metílicos em ácidos também é essencial para a aplicação prática destes compostos, tal como a incorporação em péptidos. Por conseguinte, derivados representativos de esteres metílicos de *N*-etil desidroaminoácidos foram sujeitos a clivagem do éster metílico e subsequente acoplamento com o éster metílico de um aminoácido.

Como o objectivo de clivar o éster metílico, três derivados de *N*-etildesidroaminoácidos (compostos **25d**, **Z-26c** e **Z-27c**) foram tratados com uma solução aquosa de NaOH em dioxano, obtendo-se em todos os casos com bons rendimentos os correspondentes *N*-acil, *N*-etil desidroaminoácidos (compostos **28d**, **Z-29c**, **Z-30c**, Esquema 18).

Os compostos obtidos foram caracterizados pelas técnicas espectroscópicas habituais. Pela análise dos espectros de RMN de ^1H dos compostos **28d**, **29c** e **30c** foi evidente o desaparecimento do singlete de OCH_3 . Pelos espectros de RMN de ^{13}C também foi possível verificar a inexistência do sinal OCH_3 .



$\text{P} = \text{Z}, \mathbf{c}; \text{Boc}, \mathbf{d}.$

Esquema 18. Clivagem do éster metílico em derivados de *N*-etil desidroaminoácidos e acoplamento com o cloridrato do éster metílico da fenilalanina.

Dois destes derivados de desidroaminoácidos (compostos **Z-29c** e **Z-30c**) foram feitos reagir com o éster metílico de fenilalanina usando o procedimento padrão, DCC/HOBt, para dar os correspondentes derivados *N*-etil de desidropéptidos com bons rendimentos (compostos **31c** e **32c**, Esquema 18).

Os dois dipeptidos foram caracterizados recorrendo as técnicas espectroscópicas de RMN (^1H e ^{13}C).

Os espectros de RMN de ^1H mostraram os sinais esperados para os protões NCH_2CH_3 relativos aos aminoácidos alquilados (δ 1,02 ppm **31c**; δ 0,95 ppm **32c**). Também foi possível identificar os protões dos esteres metílicos como singletos a δ 3,71 ppm **31c** e **32c**, e ainda o duplete relativo ao NH da ligação peptídica (δ 6,33 ppm **31c**; δ 6,46 ppm **32c**) (Figura 8). Nos espectros de RMN de ^{13}C destacam-se os sinais do grupo etilo, NCH_2CH_3 (δ 12,91 ppm **31c** e δ 13,07 ppm **32c**); NCH_2CH_3 (δ 43,69 ppm **31c** e δ 43,68 ppm **32c**) e do OCH_3 (δ 52,27 ppm **31c** e δ 52,29 ppm **32c**).

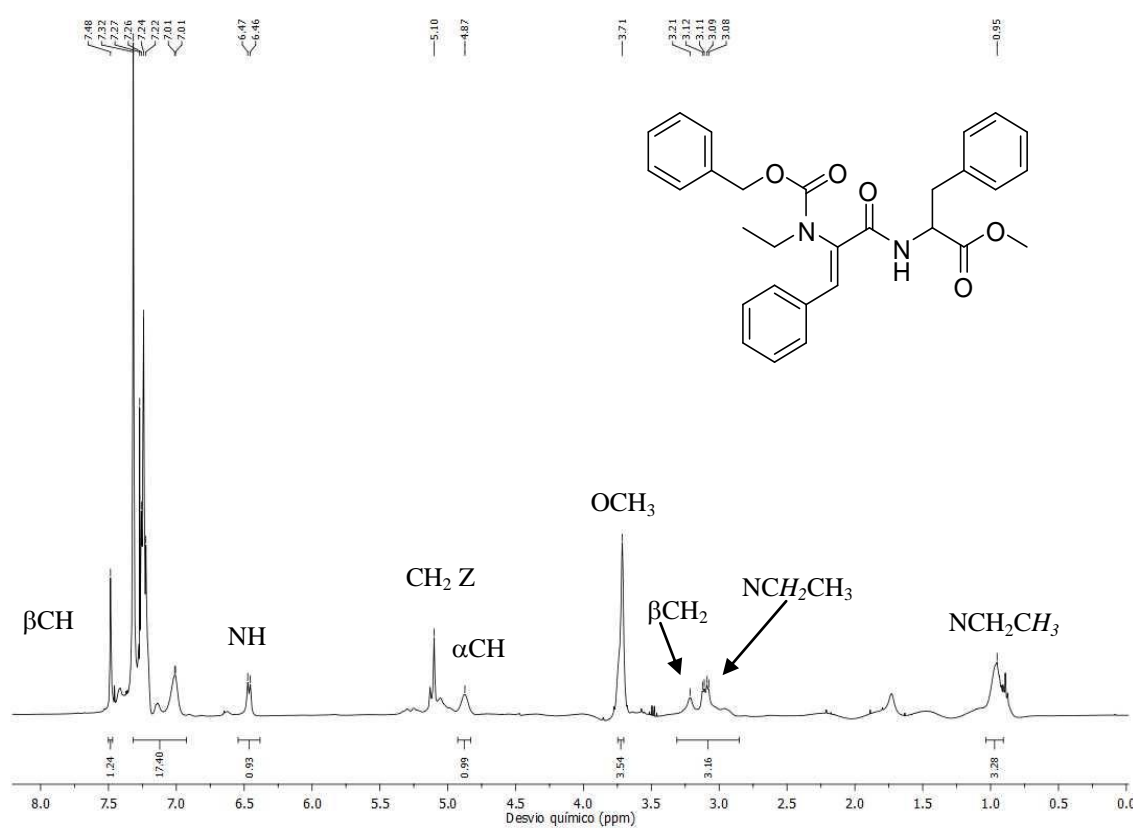


Figura 8. Espectro de RMN de ^1H , 400 MHz em CDCl_3 , do dipeptido **32c**.

Capítulo 3

Conclusão

Neste trabalho foram sintetizados novos aminoácidos não naturais, nomeadamente *N*-etil-desidroaminoácidos, com bons rendimentos utilizando metodologias de desidratação (pirocarbonato de *tert*-butilo e *N,N*-dimetilaminopiridina) e de *N*-alquilação (tetrafluoroborato de trietiloxônio e *N,N*-diisopropiletilamina ou *tert*-butóxido de potássio como base auxiliar).

Esteres metílicos de *N*-(4-nitrobenzenesulfonyl), *N*-etil-desidroaminoácidos, foram obtidos com bons rendimentos a partir de ester metílicos de *N*-(4-nitrobenzenesulfonyl), β -hidroxiaminoácidos realizando a desidratação, seguida de *N*-etilação (*N,N*-diisopropiletilamina como base). A sequência inversa (*N*-alquilação seguida de desidratação) também se revelou eficaz.

Foi realizada a *N*-etilação de derivados de β -bromo desidroaminoácidos *N*-protegidos com grupos uretano, acilo e sulfonyl usando Et_3OBF_4 como agente alquilante na presença de DIPEA. Dependendo da natureza do desidroaminoácido β -halogenado e do grupo protector, obtiveram-se diferentes rendimentos em produto *N*-etilado. Estes variaram desde conversão total em produto (derivados de β,β -dibromo, desidroalanina como os grupos protectores 4-nitrobenziloxicarbonilo e benziloxicarbonilo; ácido β -bromo desidroaminobutírico e desidrofenilalanina com grupos protectores sulfonyl) a ausência completa de *N*-etilação (ácido β -bromo desidroaminobutírico protegido com o grupo *tert*-butiloxicarbonilo). Foram determinados os desvios químicos do próton NH dos diferentes *N*-acil, β -bromo desidroaminoácidos e tentou-se estabelecer uma relação com os rendimentos em produto alquilado. Foi possível obter uma correlação para o mesmo tipo de desidroaminoácido e o mesmo tipo de grupo protector.

Alguns destes derivados de *N*-etil, β -bromodesidroaminoácidos foram usados com sucesso em reacções de acoplamento de Suzuki-Miyaura com o ácido fenilborónico.

A substituição da base DIPEA, por uma base mais forte (*tert*-butóxido de potássio) como auxiliar para a *N*-etilação de ester metílicos de β -halodesidroaminoácidos *N*-protegidos com grupos uretano, permitiu obter em todos os casos os correspondentes derivados de *N*-etil, β -halodesidroaminoácidos com elevados rendimentos (82%-96%).

A aplicação do mesmo procedimento [2,5 equiv. de Et_3OBF_4 /3,5 equiv. de $(\text{CH}_3)_3\text{COK}$] em derivados não-halogenados, levou a reacções completas permitindo

isolar com rendimentos altos (79%-97%) os correspondentes derivados *N*-etilados. Deste modo a base forte $(\text{CH}_3)_3\text{COK}$, mostrou ser mais eficiente como auxiliar na alquilação de desidroaminoácidos.

Alguns esteres metílicos de *N*-etildesidroaminoácidos sofreram clivagem do éster e acoplamento com o éster metílico da fenilalanina, permitindo preparar com bons rendimentos *N*-etildesidrodipéptidos.

Assim, este método constituiu um procedimento geral e eficaz para a síntese de desidroaminoácidos *N*-etilados, que podem ser utilizados como precursores para a síntese de novos péptidos com potencial actividade biológica.

Capítulo 4

Parte Experimental

4. Procedimentos gerais

Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C foram determinados num aparelho Varian Unity Plus a 300 e 75,4 MHz, respectivamente ou Bruker Avance II⁺ a 400 e 100,6 MHz, respectivamente, usando o pico de solvente residual como referência interna. A constante de acoplamento (J) foi obtida em hertz (Hz) e o deslocamento químico (δ) em partes por milhão (ppm). A atribuição completa dos sinais de protão e carbono foi feita recorrendo a técnicas de correlação heteronuclear bidimensional, nomeadamente HMBC e HMQC. Os solventes deuterados utilizados foram dimetilsulfóxido (DMSO- d_6) e clorofórmio ($\text{CDCl}_3\text{-d}_1$).

Os espectros de massa (HRMS) foram registrados pelo serviço de espectrometria de massa da Universidade de Vigo, Espanha.

As análises elementares foram realizadas num analisador elementar LECO CHNS-932.

Os pontos de fusão foram determinados num aparelho Gallenkamp e não foram corrigidos.

Cromatografia em coluna foi realizada em sílica MN Kieselgel 60M (230 a 400 mesh).

As análises de TLC foram efectuadas em placas de sílica gel Merck-Kieselgel 60 F254. As placas de t.l.c. foram reveladas no ultravioleta ($\nu = 50 \text{ Hz}$) numa câmara CN-6 de luz ultravioleta e, por vezes, usada a revelação com iodo.

Os reagentes utilizados foram produtos ‘pro analysis’ ou para síntese das firmas Sigma, Aldrich, Acros Organics e Panreac.

Os solventes foram usados sem purificação excepto o diclorometano e o acetonitrilo. O DCM foi seco com cloreto de cálcio (CaCl_2) e hidreto de cálcio (CaH_2) e posteriormente destilado e armazenado em crivos moleculares. O acetonitrilo foi tratado com sílica e hidreto de cálcio (CaH_2), destilado e armazenado em crivos moleculares.

O éter de petróleo utilizado refere-se à fracção com ponto de ebulição entre 40-60 °C.

As fases orgânicas foram secas usando sulfato de magnésio anidro (Riedel).

4.1. Síntese dos esteres metílicos de β -hidroxiaminoácidos.

Procedimento geral:

Adicionou-se o cloreto de tionilo (3,4 equiv.) gota a gota, a metanol (10 cm³/10 mmol de aminoácido) em banho de gelo. Juntou-se, lentamente, o aminoácido e deixou-se a agitar em banho termostatado a 40°C durante 4 horas. Removeu-se o solvente no vácuo. O sólido obtido foi lavado com éter etílico.

HCl·H-Ser-OMe; HCl·H-Thr-OMe; HCl·H-Phe(OH)-OMe.^[70] A síntese destes compostos está descrita nas referências acima indicadas.

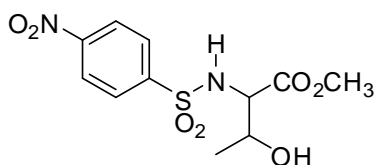
4.2. Síntese de esteres metílicos de β -hidroxiaminoácidos *N*-protegidos.

Procedimento geral:

A uma solução do éster metílico do β -hidroxiaminoácidos em diclorometano (0,1 mol.dm⁻³) adicionou-se 2,2 equiv. de trietilamina e 1,0 equiv. do respectivo grupo protector, sob forte agitação num banho de gelo. A mistura reaccional ficou em agitação à temperatura ambiente durante 4 horas. Evaporou-se o solvente em vácuo e ao extracto adicionou-se 100 cm³ de acetato de etilo. Lavou-se a fase orgânica com uma solução de KHSO₄ (1 mol.dm⁻³) e uma solução saturada de NaCl (2 vezes, 30 cm³ cada). Depois de seca com MgSO₄ anidro, evaporou-se o solvente e obteve-se o correspondente éster metílico do β -hidroxiaminoácido *N*-protegido.

Nosil-*L*-Ser-OMe **1a**;^[65] Z(NO₂)-*L*-Ser-OMe **1b**;^[64] Z-*L*-Ser-OMe **1c**;^[64] Boc-*L*-Ser-OMe **1d**;^[64] Tos-*L*-Ser-OMe **1e**;^[71] 2-Fur-*L*-Ser-OMe **1f**;^[72] Bz(4-OMe)-*L*-Ser-OMe **1g**;^[72] Z(NO₂)-*L*-Thr-OMe **2b**;^[64] Z-*L*-Thr-OMe **2c**;^[65] Boc-*L*-Thr-OMe **2d**;^[64] Tos-*L*-Thr-OMe **2e**;^[64] Nosil-*D,L*-Phe(β -OH)-OMe **3a**;^[68] Z(NO₂)-*D,L*-Phe(β -OH)-OMe **3b**;^[64] Boc-*D,L*-Phe(β -OH)-OMe **3d**;^[73] Tos-*D,L*-Phe(β -OH)-OMe **3e**.^[36]

4.2.1. Síntese de Nosil-*L*-Thr-OMe (composto 2a).



Seguiu-se o procedimento geral acima descrito usando $\text{HCl}\cdot\text{H-L-Thr-OMe}$ (0,848 g, 5 mmol) e cloreto de 4-nitrobenzenosulfonilo como reagentes para dar o composto **2a** (1,309 g, 82%) na forma de um sólido branco.

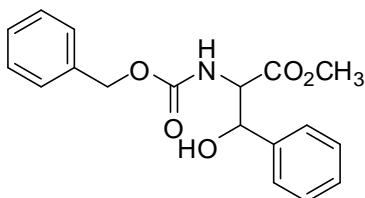
p.f. = 120,0-122,0°C (a partir de acetato de etilo/éter de petróleo).

δ_{H} (400MHz, CDCl_3) 1,33 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H, γCH_3), 3,58 (s, 3H, CH_3 OMe), 3,93 (dd, $J = 2,4$ Hz, $J = 6,8$ Hz, 1H, βCH), 4,26-4,33 (m, 1H, αCH), 5,61 (d, $J = 9,9$ Hz, 1H, NH), 7,66 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, ArH), 8,05 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, ArH) ppm.

δ_{C} (100,6MHz, CDCl_3) 20,03 (γCH_3), 52,89 (OCH_3), 60,96 (βCH), 68,27 (αCH), 124,21 (CH), 128,42 (CH), 145,79 (C), 150,09 (C), 170,45 (C=O) ppm.

Análise elementar calculada para $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}$ (318,30) C, 41,36; H, 4,48; N, 8,72; S, 10,11. Determinada C, 41,51; H, 4,43; N, 8,80; S, 10,07.

4.2.2. Síntese de **Z-D,L-Phe(β -OH)-OMe** (composto **3c**).



O procedimento geral descrito acima foi seguido usando $\text{HCl}\cdot\text{H-D,L-Phe}(\beta\text{-OH})\text{-OMe}$ (1,158 g, 5,000 mmol) e cloroformiato de benzilo como reagentes para obter o composto **3c** (1,548 g, 94%) sob a forma de um sólido branco.

p.f. = 87,0-88,0°C (a partir de acetato de etilo/*n*-hexano).

δ_{H} (400MHz, CDCl_3) 2,60 (s. l., 1H, OH), 3,76 (s, 3H, CH_3 OMe), 4,61-4,63 (m, 1H, αCH), 5,00 (s, 2H, CH_2 Z), 5,28 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, βCH), 5,66 (d. l., $J = 8,8$ Hz, 1H, NH), 7,31-7,35 (m, 10H, ArH) ppm.

δ_{C} (100,6MHz, CDCl_3) 52,63 (OCH_3), 59,80 (αCH), 66,97 (CH_2 Z), 73,57 (βCH), 125,85 (CH), 127,88 (CH), 128,05 (CH), 128,11 (CH), 128,41 (2CH), 136,13 (C), 139,52 (C), 156,24 (C=O), 171,11 (C=O) ppm.

Análise elementar calculada para $C_{18}H_{19}NO_5$ (329,35) C 65,64, H 5,81, N 4,25. Determinada C 65,49 H 5,89, N 4,41.

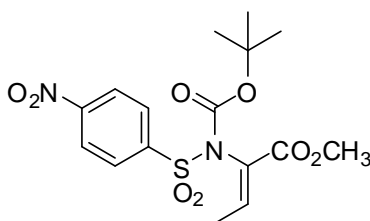
4.3. Síntese de ésteres metílicos de *N*-(*tert*-butoxicarbonil), *N*-(4-nitrofenilsulfonyl)- α,β -desidroaminoácidos.

Procedimento geral:

A uma solução do éster metílico de *N*-Nosil aminoácidos (treonina ou fenilserina) em acetônirilo seco ($0,5 \text{ mol.dm}^{-3}$) adicionou-se 0,1 equiv. de DMAP e 2,2 equiv. de pirocarbonato de *tert*-butoxicarbonilo, ficando em agitação durante 18 horas. O solvente foi evaporado sob vácuo e o óleo obtido dissolveu-se em acetato de etilo (100 cm^3). A fase orgânica foi sucessivamente lavada com uma solução de KHSO_4 (1 mol.dm^{-3}), uma solução de NaHCO_3 (1 mol.dm^{-3}) e uma solução saturada de NaCl ($3 \times 30 \text{ cm}^3$ cada) e seca com MgSO_4 anidro. Após evaporação do solvente obteve-se o respectivo derivado do éster metílico de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-(4-nitrofenilsulfonyl)- α,β -desidroaminoácido.

Nosil-Z- Δ Phe(*N*-Boc)-OMe **5a**.^[68]

4.3.1. Síntese de Nosil-Z- Δ Abu(*N*-Boc)-OMe (composto **4a**).



O procedimento geral descrito acima foi seguido usando como reagente Nosil-*L*-Thr-OMe **2a** (0,995 g, 3,0 mmol), obtendo-se o composto **4a** (0,973 g, 81%) na forma de um óleo castanho que solidificou após algum tempo.

p.f.=95,0-96,0°C.

δ_H (300MHz, CDCl_3) 1,33 (s, 9H, CH_3 Boc), 2,05 (d, $J = 7,2 \text{ Hz}$, 3H, γCH_3), 3,80 (s, 3H, CH_3 OMe), 7,35 (q, $J = 7,2 \text{ Hz}$, 1H, βCH), 8,37 (s, 4H, ArH) ppm.

δ_C (75,4MHz, $CDCl_3$) 14,92 (γCH_3), 27,73 [$C(CH_3)_3$], 52,52 (OCH_3), 85,44 [$C(CH_3)_3$], 123,46 (CH), 127,12 (C) 130,81 (CH), 144,66 (C), 145,03 (CH), 150,51 (C), 163,91 (C=O), 171,14 (C=O) ppm.

HRMS (ESI) calculada para $C_{16}H_{20}N_2NaO_8S$ 423,0838; encontrada 423,0833.

4.4. Síntese dos esteres metílicos de *N*-(4-nitrofenilsulfonil)- α,β -desidroaminoácidos.

Procedimento geral:

A uma solução de Nosil-Z- Δ aa(*N*-Boc)-OMe (Δ aa: ácido desidroaminobútrico **4a** ou desidrofenilalanina **5a**) em diclorometano (25 cm³) adicionou-se TFA (1 cm³). A mistura reaccional ficou em agitação a temperatura ambiente durante 18 horas. Adicionou-se diclorometano (75 cm³) e lavou-se a fase orgânica com uma solução de uma solução de $KHSO_4$ (1 mol.dm⁻³) e uma solução saturada de NaCl (3x30 cm³). Secou-se ($MgSO_4$ anidro) e após evaporação do solvente obteve-se os correspondentes esteres metílicos de *N*-(4-nitrofenilsulfonil)- α,β -desidroaminoácidos.

Nosil-Z- Δ Phe-OMe **8a**.^[68]

4.4.1. Síntese de Nosil- Δ Abu-OMe (composto **7a**).



O procedimento geral descrito acima foi seguido usando como reagente Nosil-Z- Δ Abu(*N*-Boc)-OMe, **4a** (0,961 g, 2,4 mmol) e obteve-se o composto **7a** (0,606 g, 84%) como um sólido branco.

p.f.=116,0-118,0°C.

δ_H (400MHz, $CDCl_3$) 2,10 (d, J = 7,2 Hz, 3H, γCH_3), 3,49 (s, 3H, CH_3 OMe), 6,18 (s, 1H, NH), 7,09 (q, J = 7,2 Hz, 1H, β CH), 8,01 (d, J = 9,2 Hz, 2H, ArH), 8,33 (d, J = 9,2 Hz, 2H, ArH) ppm.

δ_C (100,6MHz, $CDCl_3$) 15,24 (γCH_3), 52,56 (OCH_3), 123,98 (CH), 124,83 (C), 128,83 (CH), 141,92 (βCH), 144,83 (C), 150,23 (C), 164,11 (C=O) ppm.

Análise elementar calculada para $C_{11}H_{12}N_2OS$ (300,29) C, 44,00; H, 4,03; N, 9,33; S, 10,68. Determinada C, 43,46; H, 4,08; N, 9,21; S, 10,60.

HRMS (ESI) calculada para $C_{11}H_{12}N_2NaO_6S$ 323,0314; encontrada 323,0308.

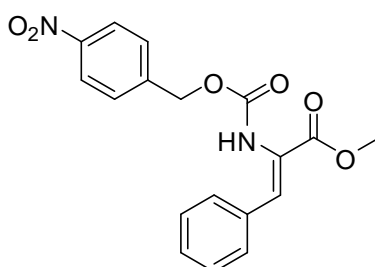
4.5. Síntese dos esteres metílicos de desidroaminoácidos *N*-protegidos.

Procedimento geral:

A uma solução de éster metílico de *N*-acil β -hidroxiaminoácido em acetonitrilo seco (1 mol.dm^{-3}) adicionou-se 0,1 equiv. de DMAP e 1,0 equiv. de $(Boc)_2O$ sob forte agitação à temperatura ambiente. A reacção foi seguida por TLC (éter dietílico/éter de petróleo, 1:1) até o reagente de partida ter sido consumido. Então, adicionou-se TMG (2%) e a mistura reaccional continuou em agitação e monitorizada por TLC. Quando todo o reagente foi consumido, evaporou-se o solvente para dar um resíduo que se dissolveu em acetato de etilo (100 cm^3). A fase orgânica foi lavada com uma solução de $KHSO_4$ (1 mol.dm^{-3}), uma solução de $NaHCO_3$ (1 mol.dm^{-3}) e uma solução saturada de $NaCl$ ($2 \times 30 \text{ cm}^3$ cada) e seca com $MgSO_4$ anidro. A remoção do solvente permitiu obter os correspondes esteres metílicos de *N*-acil α,β -desidroaminoácidos.

$Z(NO_2)-\Delta Ala-OMe$ **6b**,^[36] $Z-\Delta Ala-OMe$ **6c**,^[36] $Boc-\Delta Ala-OMe$ **6d**,^[64] $Tos-\Delta Ala-OMe$ **6e**,^[36] $2-Fur-\Delta Ala-OMe$ **6f**,^[72] $Bz(4-OMe)-\Delta Ala-OMe$ **6g**,^[72] $Z(NO_2)-Z-\Delta Abu-OMe$ **7b**,^[64] $Z-Z-\Delta Abu-OMe$ **7c**,^[64] $Boc-Z-\Delta Abu-OMe$ **7d**,^[64] $Tos-\Delta Abu-OMe$ **7e**,^[36] $Boc-Z-\Delta Phe-OMe$ **8d**,^[73] $Tos-\Delta Phe-OMe$ **8e**.^[36] A síntese destes compostos está descrita nas referências acima indicadas.

4.5.1. Síntese de $Z(NO_2)-Z-\Delta Phe-OMe$ (composto **8b**).



O procedimento geral descrito acima foi seguido usando como reagente Z(NO₂)-*D,L*-Phe(β-OH)-OMe **3b** (1,608 g, 4,300 mmol) para obter **8b** (1,166 g, 76%) como um óleo laranja.

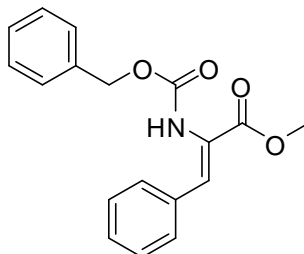
p.f.= 108,0-109,0°C (a partir de acetato de etilo/éter de petróleo).

δ_H (300MHz, CDCl₃) 3,86 (s, 3H, CH₃ OMe), 5,20 [s, 2H, CH₂ Z(NO₂)], 6,40 (s. l., 1H NH), 7,27-7,41 (m, 6H, ArH + βH), 7,55 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H, ArH), 8,23 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, ArH) ppm

δ_C (100,6MHz, CDCl₃) 52,77 (OCH₃), 65,92 [CH₂ Z(NO₂)], 123,67 (CH), 126,95 (C), 128,23 (CH), 128,47 (CH), 128,66 (CH), 129,67 (CH), 132,52 (CH), 133,46 (C), 143,21 (C), 147,63 (C), 153,45 (C=O), 165,56 (C=O) ppm.

Análise elementar calculada para C₁₈H₁₆N₂O₆ (356,33) C 60,67; H 4,53; N 7,86. Determinada C 60,36; H 4,69; N 8,09.

4.5.2. Síntese de Z-Z-ΔPhe-OMe (composto **8c**).



O procedimento geral descrito acima foi seguido usando como reagente Z-*D,L*-Phe(β-OH)-OMe **3c** (1,028 g, 3,120 mmol) para obter **8c** (0,795 g, 82%) como um óleo amarelado que resistiu a recrystalizar.

δ_H (400MHz, CDCl₃) 3,82 (s, 3H, CH₃ OMe), 5,13 (s, 2H, CH₂ Z), 6,39 (s. l., 1H NH), 7,33-7,37 (m, 9H, ArH + βH), 7,51-7,52 (m, 2H, ArH) ppm.

δ_C (100,6MHz, CDCl₃) 52,63 (OCH₃), 67,50 (CH₂), 128,17 (CH), 128,22 (CH), 128,33 (C), 128,47 (CH), 128,59 (CH), 129,45 (CH), 129,70 (CH), 131,71 (CH), 133,57 (C), 135,89 (C), 153,80 (C=O), 165,71 (C=O) ppm.

HRMS (ESI) calculada para C₁₈H₁₇NNaO₄ 334,10553; encontrada 334,10553.

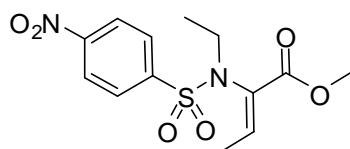
4.6. Síntese dos esteres metílicos de *N*-etil, *N*-Nosil-desidroaminoácidos.

Procedimento geral:

A uma solução de Nosil- Δ aa-OMe em diclorometano seco ($0,05 \text{ mol.dm}^{-3}$) adicionou-se *N,N*-diisopropiletilamina (3,5 equiv.) e tetrafluoroborato de trietiloxônio (2,2 equiv.) sob atmosfera inerte. A mistura reaccional ficou em agitação durante 30 min. à temperatura ambiente. Adicionou-se diclorometano (30 cm^3). A fase orgânica foi, sucessivamente, lavada com uma solução de KHSO_4 (1 mol.dm^{-3}), uma solução de NaHCO_3 (1 mol.dm^{-3}) e uma solução saturada de NaCl ($2 \times 15 \text{ cm}^3$ cada) e seca com MgSO_4 anidro. Evaporou-se o solvente no vácuo e obteve-se os esteres metílicos de *N*-Nosil, *N*-etil, desidroaminoácidos.

Nosil- Δ Phe(*N*-Et)-OMe **11a**.^[68]

4.6.1. Síntese de Nosil-*N*(Et)- Δ Abu-OMe (composto **10a**).



O procedimento geral descrito acima foi seguido usando como reagente Nosil- Δ Abu-OMe **7a** (0,150 g, 0,5 mmol) para dar **10a** (0,114 g, 70%) como um óleo amarelo que solidificou.

p.f. = 90,0–91,0°C.

δ_{H} (400MHz, CDCl_3) 1,14 (t, $J = 7,2 \text{ Hz}$, 3 H, CH_2CH_3), 2,05 (d, $J = 7,2 \text{ Hz}$, 3 H, γCH_3), 3,18 (s. l., 1 H, CH_2CH_3), 3,55 (s, 3 H, $\text{CH}_3 \text{ OMe}$), 3,73 (s. l., 1 H, CH_2CH_3), 7,39 (q, $J = 7,2 \text{ Hz}$, 1H, βCH), 8,01 (d, $J = 9,2 \text{ Hz}$, 2H, ArH), 8,34 (d, $J = 9,2 \text{ Hz}$, 2H, ArH) ppm.

δ_{C} (100,6MHz, CDCl_3) 13,97 (CH_3), 15,44 (γCH_3), 44,49 (CH_2), 52,06 (OCH_3), 123,82 (CH), 128,03 (C), 128,93 (CH), 145,44 (C), 147,55 (βCH), 149,93 (C), 163,79 (C=O) ppm.

Análise elementar calculada para $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ (328,24) C 47,55; H 4,91; N 8,53; S 9,77. Determinada C 47,03, H 4,99; N 8,36; S 9,52.

HRMS (ESI) calculada para $C_{13}H_{16}N_2NaO_6S$ 351,0627; encontrada 351,0621.

4.7. Síntese dos esteres metílicos de *N*-etil, *N*-Nosil β -hidroxiaminoácidos.

Procedimento geral:

A uma solução de Nosil-*L*-aa-OMe em diclorometano seco ($0,05 \text{ mol.dm}^{-3}$) adicionou-se *N,N*-diisopropiletilamina (3,5 equiv.) e tetrafluoroborato de trietiloxônio (1,0 equiv.) sob atmosfera inerte. A mistura reaccional ficou em agitação a temperatura ambiente durante 30 min. De seguida, adicionou-se diclorometano (80 cm^3) e a fase orgânica foi, sucessivamente, lavada com uma solução de $KHSO_4$ (1 mol.dm^{-3}), uma solução de $NaHCO_3$ (1 mol.dm^{-3}) e uma solução saturada de NaCl ($2 \times 15 \text{ cm}^3$ cada) e seca com $MgSO_4$ anidro. Evaporou-se o solvente no vácuo e obteve-se os esteres metílicos de *N*-etil, *N*-Nosil β -hidroxiaminoácidos.

Nosil-*N*(Et)-*L*-Ser-OMe **12a**,^[68] Nosil-*N*(Et)-*L*-Thr-OMe **13a**,^[68] Nosil-*N*(Et)-*D,L*-Phe(β -OH)-OMe **14a**.^[68]

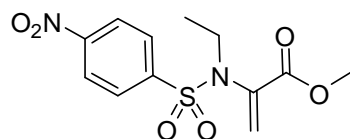
4.8. Síntese dos esteres metílicos de *N*-etil, *N*-Nosil desidroaminoácidos.

Procedimento geral:

Dissolveu-se Nosil-*N*(Et)-*L*-aa-OMe em acetonitrilo seco ($0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$) e adicionou-se 0,1 equiv. de DMAP e 1,1 equiv. de $(Boc)_2O$. Deixou-se a agitar a mistura reaccional durante 30 min. e de seguida adicionou-se TMG. Após 15 min em agitação evaporou-se o solvente e adicionou-se éter dietílico (100 cm^3). A fase orgânica foi, sucessivamente, lavada com uma solução de $KHSO_4$ (1 mol.dm^{-3}), uma solução de $NaHCO_3$ (1 mol.dm^{-3}) e uma solução saturada de NaCl ($2 \times 30 \text{ cm}^3$ cada) e seca com $MgSO_4$ anidro. Evaporou-se o solvente no vácuo e obteve-se os esteres metílicos de *N*-etil, *N*-Nosil α,β -desidroaminoácidos.

Nosil-*N*(Et)- Δ Phe-OMe **11a**.^[68]

4.8.1. Síntese de Nosil-*N*(Et)- Δ Ala-OMe (composto 9a).



O procedimento geral descrito acima foi seguido usando como reagente Nosil-*N*(Et)-*L*-Ser-OMe **12a** (0,166 g, 0,5 mmol) e obteve-se o composto **9a** (0,115 g, 73%) como um óleo amarelo.

p.f. = 69,0–70,0°C (a partir de acetato de etilo/éter de petróleo)

δ_{H} (400MHz, CDCl_3) 1,16 (t, $J = 7,2$ Hz, 3 H, CH_3), 3,50 (q, $J = 7,2$ Hz, 2 H, NCH_2CH_3), 3,68 (s, 3 H, CH_3 OMe), 5,96 (s, 1 H, βCH_2), 6,54 (s, 1 H, βCH_2), 8,01 (d, $J = 9,2$ Hz, 2 H, ArH), 8,35 (d, $J = 9,2$ Hz, 2 H, ArH) ppm.

δ_{C} (100,6MHz, CDCl_3) 13,99 (CH_3), 44,30 (NCH_2CH_3), 52,58 (OCH_3), 124,04 (CH), 128,84 (CH), 130,48 (βCH_2), 134,43 (αC), 145,00 (C), 150,06 (C), 163,63 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

HRMS (ESI) calculada para $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{NaO}_6\text{S}$ 337,0470; encontrada 337,0465.

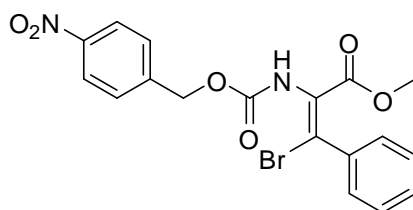
4.9. Síntese dos ésteres metílicos de β -halodesidroaminoácidos *N*-protegidos.

Procedimento geral:

Dissolveu-se o éster metílico de *N*-acil α,β -desidroaminoácidos em diclorometano e adicionou-se 2,5 equiv. de *N*-bromosuccinimida aos derivados de desidroalaninas e 1,2 equiv. aos derivados de desidroaminoácidos β -substituídos, sob forte agitação. Após 16 horas de reação, adicionou-se trietilamina (1,5 equiv.) e deixou-se a agitar durante 1 hora. Adicionou-se diclorometano (100 cm^3). Lavou-se a fase orgânica com uma solução de KHSO_4 (1 mol.dm^{-3}), uma solução de NaHCO_3 (1 mol.dm^{-3}) e uma solução saturada de NaCl (3x30 cm^3 cada). Depois de seca sobre MgSO_4 anidro evaporou-se o solvente. Caso fosse necessário, os diastereoisómeros foram separados por cromatografia em coluna usando como gradiente de solvente de éter de petróleo puro a 40% de éter dietílico/éter de petróleo para dar o correspondente éster metílico do *N*-acil, β -halodesidroaminoácido.

Z(NO₂)-ΔAla(β,β-Br)-OMe **15b**;^[36] Z-ΔAla(β,β-Br)-OMe **15c**;^[36] Boc-ΔAla(β,β-Br)-OMe **15d**;^[35a] 2-Fur-ΔAla(β,β-Br)-OMe **15f**;^[74] Bz(4-OMe)-ΔAla(β,β-Br)-OMe **15g**;^[74] Nosil-Z-ΔAbu(β-Br)-OMe **Z-16a**;^[70] Z(NO₂)-E-ΔAbu(β-Br)-OMe **E-16b**;^[36] Z(NO₂)-Z-ΔAbu(β-Br)-OMe **Z-16b**;^[36] Z-Z-ΔAbu(β-Br)-OMe **Z-16c**;^[36] Boc-E-ΔAbu(β-Br)-OMe **E-16d**;^[75] Boc-Z-ΔAbu(β-Br)-OMe **Z-16d**;^[75] Tos-Z-ΔAbu(β-Br)-OMe **Z-16e**;^[36] Nosil-Z-ΔPhe(β-Br)-OMe **Z-17a**;^[70] Boc-Z-ΔPhe(β-Br)-OMe **Z-17d**;^[35b] Tos-Z-ΔPhe(β-Br)-OMe **Z-17e**;^[36] Z(NO₂)-Z-ΔPhe(β-I)-OMe **Z-18b**;^[77] Boc-Z-ΔPhe(β-I)-OMe **Z-18d**.^[76]

4.9.1. Síntese de Z(NO₂)-Z-ΔPhe(β-Br)-OMe (composto Z-17b).



O procedimento geral descrito acima foi seguido usando como reagente Z(NO₂)-Z-ΔPhe-OMe (**8b**) (1,003 g, 2,816 mmol) e 1,2 equiv. de NBS para obter **Z-17b** (1,137 g, 93%) como um sólido branco.

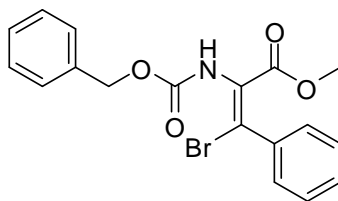
p.f. = 151,0-152,0°C (a partir de acetato de etilo/*n*-hexano)

δ_H (300MHz, CDCl₃) 3,51 (s. l., 3H, CH₃ OMe), 5,29 [s, 2H, CH₂ Z(NO₂)], 6,80 (s. l., 1H NH), 7,35 (s, 5H, ArH), 7,55 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H, ArH), 8,25 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H, ArH) ppm.

δ_C (75,4MHz, CDCl₃) 52,64 (OCH₃), 66,40 [CH₂ Z(NO₂)], 117,09 (C), 123,85 (CH), 128,34 (CH), 128,45 (CH), 128,48 (C), 128,83 (CH), 129,50 (CH), 137,03 (C), 142,53 (C), 147,85 (C), 152,50 (C=O), 163,12 (C=O) ppm.

Análise elementar calculada para C₁₈H₁₅N₂O₆Br (435,23) C 49,67; H 3,47; N 6,44. Determinada C 50,07; H 3,69; N 6,34.

HRMS (ESI) calculada para C₁₈H₁₅N₂NaO₆Br 457,00112; encontrada 457,00224.

4.9.2. Síntese de Z-Z-ΔPhe(β-Br)-OMe (composto Z-17c).

O procedimento geral descrito acima foi seguido usando como reagente Z-Z-ΔPhe-OMe **8c** (0,970 g, 3,119 mmol) e 1,2 equiv. de NBS para obter **Z-17c** (1,045 g, 86%) como um sólido branco.

p.f.= 87,0-88,0°C (a partir de éter dietílico/*n*-hexano)

δ_H (400MHz, CDCl₃) 3,53 (s. l., 3H, CH₃ OMe), 5,19 (s, 2H, CH₂ Z), 6,76 (s. l., 1H, NH), 7,33-7,39 (m, 10H, ArH) ppm.

δ_C (100,6MHz, CDCl₃) 52,55 (OCH₃), 68,14 (CH₂ Z), 115,61 (C), 128,27 (CH), 128,46 (CH), 128,58 (CH), 128,63 (CH), 128,86 (C), 128,91 (CH), 129,30 (CH), 135,18 (C), 137,17 (C), 152,86 (C=O), 163,24 (C=O) ppm.

Análise elementar calculada para C₁₈H₁₆NO₄Br (390,23) C 55,40; H 4,13; N 3,59. Determinada C 55,60, H 4,15; N 3,62.

4.10. Síntese dos esteres metílicos de N-acil, N-etil-β,β-dibromodesidroalaninas e N-acil, N-etil-β-bromo desidroaminoácidos β-substituídos.

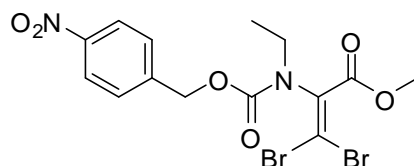
Procedimento geral:

A uma solução de N-acil, β-bromodesidroaminoácido em diclorometano seco adicionou-se 3,5 equiv. de N,N-diisopropiletilamina e 2,5 equiv. de tetrafluoroborato de trietiloxônio sob atmosfera inerte. A mistura reaccional ficou em agitação durante 30 min. à temperatura ambiente. Nos casos em que o TLC mostrava a presença de algum reagente de partida, adicionou-se mais 1,0 equiv. de N,N-diisopropiletilamina e de tetrafluoroborato de trietiloxônio e a reacção continuou em agitação durante mais 1 hora. De seguida adicionou-se diclorometano (50 cm³) e lavou-se a fase orgânica com água e uma solução saturada de NaCl (3x25 cm³ cada). Depois de seca sobre MgSO₄

anidro evaporou-se o solvente e obteve-se um óleo que foi sujeito a recristalização ou a uma cromatografia em coluna usando como eluente o éter dietílico/éter de petróleo.

Nosil-*N*(Et)-*Z*- Δ Abu(β -Br)-OMe **Z-20a**,^[69] Tos-*N*(Et)-*Z*- Δ Abu(β -Br)-OMe **Z-20e**,^[69]
 Nosil-*N*(Et)-*Z*- Δ Phe(β -Br)-OMe **Z-21a**,^[69] Tos-*N*(Et)-*Z*- Δ Phe(β -Br)-OMe **Z-21e**.^[69]

4.10.1. Síntese de **Z(NO₂)-*N*(Et)- Δ Ala(β , β -Br)-OMe (composto 19b).**



O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente **Z(NO₂)- Δ Ala(β , β -Br)-OMe 15b** (0,764 g, 1,745 mmol) para obter **19b** (0,687 g, 85%) como um óleo amarelado.

p.f. = 58,0-59,0°C (a partir de éter dietílico/*n*-hexano)

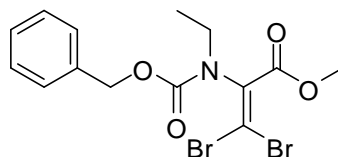
δ_H (400MHz, CDCl₃) 1,21, 1,24 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H, CH₂CH₃), 3,57 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H, CH₂CH₃), 3,75, 3,81 (2s, 3H, CH₃ OMe), 5,25, 5,30 [2s, 2H, CH₂ Z(NO₂)], 7,48, 7,54 (2d, *J* = 8,8 Hz, 2H, ArH), 8,23 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, ArH) ppm.

δ_C (100,6MHz, CDCl₃) 12,89 (CH₃), 44,11 (CH₂), 52,86 (OCH₃), 66,23 [CH₂ Z(NO₂)], 108,16 (C), 123,73, 123,82 (CH), 127,98, 128,08 (CH), 134,32 (C), 143,42 (C), 147,62 (C), 153,29 (C=O), 162,83 (C=O) ppm.

Análise elementar calculada para C₁₄H₁₄N₂O₆Br₂ (466,08) C 36,08; H 3,03; N 6,01. Determinada C 36,02; H 3,12; N 6,01.

HRMS (ESI) calculada para C₁₄H₁₄N₂NaO₆Br₂ 486,91163; encontrada 486,91108.

4.10.2. Síntese de **Z-*N*(Et)- Δ Ala(β , β -Br)-OMe (composto 19c).**



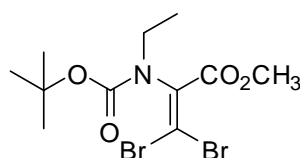
O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente **Z- Δ Ala(β , β -Br)-OMe 15c** (0,158 g, 0,400 mmol) para obter **19c** (0,138 g, 82%) como um óleo incolor que resistiu a recristalizar.

δ_H (400MHz, $CDCl_3$) 1,22 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 3,57 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 3,62, 3,80 (2s, 3H, CH_3 OMe), 5,16, 5,22 (2s, 2H, CH_2 Z), 7,31-7,38 (m, 5H, ArH) ppm.

δ_C (100,6MHz, $CDCl_3$) 12,96, 13,71 (CH_3), 43,91, 44,27 (CH_2), 52,61 (OCH_3), 67,69, 67,92 (CH_2 Z), 107,25 (C), 127,91 (CH), 128,08 (CH), 128,42 (CH), 134,62 (C), 136,08 (C), 153,79 (C=O), 162,92 (C=O) ppm.

HRMS (ESI) calculada para $C_{14}H_{15}NNaO_4Br_2$ 441,92655; encontrada 441,92600.

4.10.3. Síntese de Boc-*N*(Et)- Δ Ala(β,β -Br)-OMe (composto 19d).



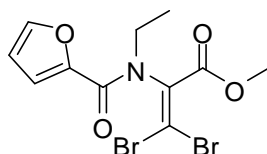
O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Boc- Δ Ala(β,β -Br)-OMe **15d** (0,180 g, 0,500 mmol) para obter 0,176 g de um óleo incolor constituído por uma mistura de produto e reagente num ratio de 48/52. A cromatografia em coluna, usando como eluente éter dietílico/éter de petróleo, permitiu obter **19d** (0,084 g, 44%) como um óleo incolor que não recristalizou.

δ_H (400MHz, $CDCl_3$) 1,18 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 1,42 (s, 9H, CH_3 Boc), 3,50 (q, 2H, $J = 7,2$ Hz, CH_2CH_3), 3,80 (s, 3H, CH_3 OMe) ppm.

δ_C (100,6MHz, $CDCl_3$) 13,05 (CH_3), 28,11 [$C(CH_3)_3$], 42,96 (CH_2), 52,56 (OCH_3), 81,25 [$OC(CH_3)_3$], 105,08 (C), 135,40 (C), 152,71 (C=O), 163,35 (C=O) ppm.

HRMS (ESI) calculada para $C_{11}H_{17}NNaO_4Br_2$ 407,94220; encontrada 407,94198.

4.10.4. Síntese de 2-Fur-*N*(Et)- Δ Ala(β,β -Br)-OMe (composto 19f).



O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente 2-Fur- Δ Ala(β,β -Br)-OMe **15f** (0,177 g, 0,500 mmol) para obter 0,185 g de um óleo amarelo formado por uma mistura de produto e reagente de ratio 82/18. A cromatografia em

coluna, usando como eluente éter dietílico/éter de petróleo, permitiu obter **19f** (0,152 g, 80%) como um óleo incolor.

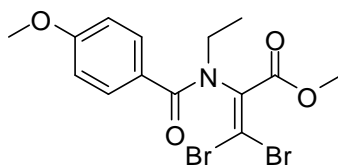
p.f. = 74,0-75,0°C (a partir de éter dietílico/éter de petróleo)

δ_H (400MHz, $CDCl_3$) 1,26 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 3,69 (q. 1., 2H, CH_2CH_3), 3,78 (s, 3H, CH_3 OMe), 6,45 (dd, $J = 1,8$ Hz, $J = 3,3$ Hz, 1H, ArH), 7,06 (d, $J = 3,3$ Hz, 1H, ArH), 7,46 (s, 1H, ArH) ppm.

δ_C (100,6MHz, $CDCl_3$) 12,64 (CH_3), 43,71 (CH_2), 52,97 (OCH_3), 108,75 (C), 111,48 (CH), 116,80 (CH), 135,73 (C), 144,95 (CH), 147,25 (C), 158,37 (C=O), 162,91 (C=O) ppm.

Análise elementar calculada para $C_{11}H_{11}NO_4Br_2$ (381,02) C 34,67; H 2,91; N 3,68. Determinada C 34,73; H 2,94; N 3,72.

4.10.5. Síntese de Bz(4-OMe)-N(Et)- Δ Ala(β,β -Br)-OMe (composto **19g**).



O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Bz(4-OMe)- Δ Ala(β,β -Br)-OMe **15g** (0,118 g, 0,300 mmol) para dar 0,093 g de um óleo incolor constituído por uma mistura de produto e reagente num ratio de 64/36. A cromatografia em coluna, usando como eluente éter dietílico/éter de petróleo, permitiu obter **19g** (0,060 g, 47%) como um óleo incolor.

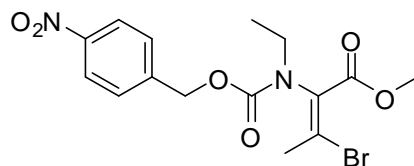
p.f. = 68,0-70,0°C (a partir de éter dietílico/*n*-hexano)

δ_H (400MHz, $CDCl_3$) 1,27 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 3,59 (s. 1., 2H, CH_2CH_3), 3,78 (s, 3H, CH_3 OMe), 3,83 (s, 3H, CH_3 OMe), 6,86 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, ArH), 7,56 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, ArH) ppm.

δ_C (100,6MHz, $CDCl_3$) 12,83 (CH_3), 43,49 (CH_2), 52,98 (OCH_3), 55,27 (OCH_3), 105,52 (C), 113,34 (CH), 127,73 (C), 129,63 (CH), 137,33 (C), 161,54 (C), 163,33 (C=O), 169,98 (C=O) ppm.

Análise elementar calculada para $C_{14}H_{15}NO_4Br_2$ (421,08) C 39,93; H 3,59; N 3,33. Determinada C 40,38; H 3,86; N 3,33.

4.10.6. Síntese de $Z(NO_2)$ - $N(Et)$ - E - Δ Abu(β -Br)-OMe (composto E -20b).



O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente $Z(NO_2)$ - E - Δ Abu(β -Br)-OMe E -**16b** (0,118 g, 0,315 mmol) para dar 0,119 g de um óleo incolor formado de uma mistura de produto e reagente num ratio de 80/20. Uma cromatografia em coluna, usando como eluente éter dietílico/éter de petróleo, possibilitou obter E -**20b** (0,095 g, 75%) como um sólido branco.

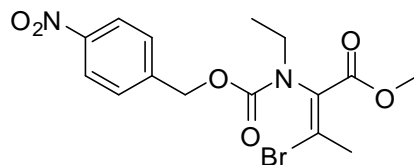
p.f. = 59,0-60,0°C (a partir de éter dietílico/*n*-hexano)

δ_H (300MHz, $CDCl_3$) 1,19 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 2,42 (s, 3H, γCH_3), 3,49 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 3,73, 3,79 (2s, 3H, CH_3 OMe), 5,23, 5,30 [2s. l., 2H, CH_2 $Z(NO_2)$], 7,46 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, ArH), 8,22 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, ArH) ppm.

δ_C (75,4MHz, $CDCl_3$) 12,84 (CH_3), 27,00 (γCH_3), 44,43 (CH_2), 52,32 (OCH_3), 66,03 [CH_2 $Z(NO_2)$], 123,73, 123,82 (CH), 127,88 (CH), 129,45 (C), 132,95 (C), 143,61 (C), 147,57 (C), 154,22 (C=O), 164,00 (C=O) ppm.

Análise elementar calculada para $C_{15}H_{17}N_2O_6Br$ (401,21) C 44,90; H 4,27; N 6,98. Determinada C 45,23; H 4,40; N 7,07.

4.10.7. Síntese de $Z(NO_2)$ - $N(Et)$ - Z - Δ Abu(β -Br)-OMe (composto Z -20b).



O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente $Z(NO_2)$ - Z - Δ Abu(β -Br)-OMe Z -**16b** (0,187 g, 0,500 mmol) para obter 0,178 g de um óleo amarelado formado por uma mistura de produto e reagente num ratio de 37/63. Uma

cromatografia em coluna, usando como eluente éter dietílico/éter de petróleo, possibilitou obter **Z-20b** (0,066 g, 33%) como um óleo incolor.

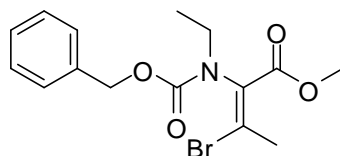
p.f. = 73,0-73,5°C (a partir de éter dietílico/*n*-hexano)

δ_H (400MHz, $CDCl_3$) 1,19, 1,22 (2t, $J = 7,2$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 2,85, 2,86 (2s, 3H, γCH_3), 3,48, 3,55 (2q, $J = 7,2$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 3,70, 3,76 (2s, 3H, $CH_3 OMe$), 5,21, 5,30 [2s, 2H, $CH_2 Z(NO_2)$], 7,45, 7,54 (2d, $J = 8,7$ Hz, 2H, ArH), 8,19-8,24 (m, 2H, ArH) ppm.

δ_C (100,6MHz, $CDCl_3$) 12,83, 13,64 (CH_3), 26,83 (γCH_3), 44,17, 44,31 (CH_2), 52,36, 52,43 (OCH_3), 65,78, 65,96 [$CH_2 Z(NO_2)$], 123,61, 123,72 (CH), 127,81, 127,87 (CH), 130,02 (C), 142,90 (C), 143,91, 143,99 (C), 147,47 (C), 154,00, 154,38 (C=O), 163,45, 163,64 (C=O) ppm.

Análise elementar calculada para $C_{15}H_{17}N_2O_6Br$ (401,21) C 44,90; H 4,27; N 6,98. Determinada C 44,89; H 4,40; N 7,03.

4.10.8. Síntese de Z-N(Et)-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe (composto Z-20c).



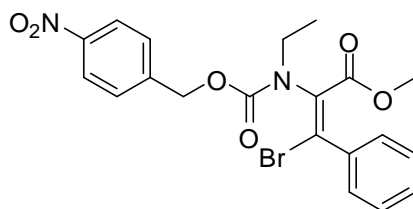
O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Z-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe **Z-16c** (0,318 g, 0,970 mmol) para obter 0,322 g de um óleo incolor formado por uma mistura de produto e reagente num ratio de 43/57. Uma cromatografia em coluna, usando como eluente éter dietílico/éter de petróleo, possibilitou obter **Z-20c** (0,138 g, 40%) como um óleo incolor que resistiu a recristalizar.

δ_H (400MHz, $CDCl_3$) 1,19, 1,20 (2t, $J = 7,2$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 2,84, 2,85 (2s, 3H, γCH_3), 3,52 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 3,59, 3,75 (2s, 3H, $CH_3 OMe$), 5,07, 5,22 (2s, 2H, $CH_2 Z$), 7,28-7,39 (m, 5H, ArH) ppm.

δ_C (100,6MHz, $CDCl_3$) 12,91, 13,64 (CH_3), 26,74, 26,77 (γCH_3), 43,95, 44,19 (CH_2), 52,12, 52,23 (OCH_3), 67,19, 67,42 ($CH_2 Z$), 127,72 (CH), 127,84 (CH), 127,96 (CH), 128,31 (CH), 128,42 (CH), 130,30, 131,06 (C), 136,50 (C), 142,11, 142,19 (C), 154,53, 153,85 (C=O), 163,71, 163,82 (C=O) ppm.

HRMS (ESI) calculada para $C_{15}H_{18}NNaO_4Br$ 378,03169; encontrada 378,03114.

4.10.9. Síntese de Z(NO₂)-N(Et)-Z-ΔPhe(β-Br)-OMe (composto Z-21b).



O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Z(NO₂)-Z-ΔPhe(β-Br)-OMe **Z-17b** (0,109 g, 0,250 mmol) para obter 0,076 g de um óleo incolor formado por uma mistura de produto e reagente num ratio de 45/55. Uma cromatografia em coluna, usando como eluente éter dietílico/éter de petróleo, possibilitou obter **Z-21b** (0,034 g, 30%) como um sólido amarelado.

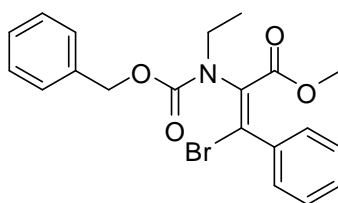
p.f. = 117,0-118,0°C (a partir de acetato de etilo/*n*-hexano)

δ_H (400MHz, CDCl₃) 1,33, 1,37 (2t, *J* = 7,6 Hz, 3H, CH₂CH₃), 3,42, 3,46 (2s, 3H, CH₃ OMe), 3,68-3,75 (m. l., 2H, CH₂CH₃), 5,28, 5,34 [2s, 2H, CH₂ Z(NO₂)], 7,30-7,40 (m, 5H, ArH), 7,50, 7,57 (2d, *J* = 8,4 Hz, 2H, ArH), 8,21, 8,26 (2d, *J* = 8,4 Hz, 2H, ArH) ppm.

δ_C (100,6MHz, CDCl₃) 13,13, 13,97 (CH₂CH₃), 43,85, 44,15 (CH₂), 52,26 (OCH₃), 66,20, 66,26 [CH₂ Z(NO₂)], 123,67 (CH), 123,83 (CH), 127,90 (CH), 128,00 (CH), 128,16 (CH), 128,16 (CH), 128,31 (CH), 128,38 (CH), 129,73 (CH), 129,90 (CH), 131,28 (C), 138,32 (C), 138,60 (C), 143,71 (C), 147,56 (C), 153,89 (C=O), 164,19 (C=O) ppm.

Análise elementar calculada para C₂₀H₁₉N₂O₆Br (463,28) C 51,85; H 4,13; N 6,05. Determinada C 51,91; H 4,15; N 6,12.

4.10.10. Síntese de Z-N(Et)-Z-ΔPhe(β-Br)-OMe (composto Z-21c).



O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Z-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe **Z-17c** (0,133 g, 0,341 mmol) para obter 0,135 g de um óleo incolor constituído por uma mistura de produto e reagente num ratio de 38/62. Uma cromatografia em coluna, usando como eluente éter dietílico/éter de petróleo, possibilitou obter **Z-21c** (0,051 g, 36%) como um óleo incolor.

δ_H (400MHz, $CDCl_3$) 0,90, 1,33 (2t, $J = 7,5$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 3,33, 3,47 (2s, 3H, CH_3 OMe), 3,72 (q, $J = 7,5$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 5,19, 5,25 (2s, 2H, CH_2 Z), 7,30-7,37 (m, 10H, ArH) ppm.

δ_C (100,6MHz, $CDCl_3$) 13,19, 14,08 (CH_2CH_3), 43,54, 43,99 (CH_2), 52,02, 52,16 (OMe), 67,66, 67,76 (CH_2 Z), 127,85 (CH), 127,94 (CH), 128,15 (CH), 128,20 (CH), 128,32 (CH), 129,57 (CH), 131,64 (C), 136,22 (C), 137,43 (C), 138,87 (C), 154,39, 155,00 (C=O), 164,17, 164,45 (C=O) ppm.

HRMS (ESI) calculada para $C_{20}H_{20}NNaO_4Br$ 440,04734; encontrada 440,04658.

4.10.11. Tentativa de síntese de Boc-N(Et)-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe (composto **Z-21d**).

O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Boc-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe **Z-17d** (0,178 g, 0,500 mmol) para obter **Z-21d** (0,175 g) de um óleo incolor formado por uma mistura de produto e reagente num ratio de 15/85 que não foi possível separar.

4.11. Síntese dos esteres metílicos de N-acil, N-etil- β,β -dibromodesidroalaninas e N-acil, N-etil- β -bromo desidroaminoácidos β -substituídos usando como base *tert*-butóxido de potássio.

Procedimento geral:

A uma solução de derivado de N-acil, β -bromo desidroaminoácidos em diclorometano seco adicionou-se 3,5 equiv. de *tert*-butóxido de potássio e 2,5 equiv. de tetrafluoroborato de trietiloxônio sob atmosfera inerte. Após 30 min de reacção adicionou-se diclorometano (50 cm^3) e lavou-se a fase orgânica com água e uma solução saturada de NaCl (3x25 cm^3 cada). Depois de seca sobre $MgSO_4$ anidro,

evaporou-se o solvente para obter o correspondente éster metílico de *N*-acil, *N*-etil- β,β -dibromoalanina e *N*-acil, *N*-etil- β -bromo desidroaminoácido β -substituído.

4.11.1. Síntese de Boc-*N*(Et)- Δ Ala(β,β -Br)-OMe (composto **19d**).

O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Boc- Δ Ala(β,β -Br)-OMe **15d** (0,066 g, 0,182 mmol) para obter **19d** (0,066 g, 93%).

4.11.2. Síntese de Z(NO₂)-*N*(Et)-*E*- Δ Abu(β -Br)-OMe (composto *E*-**20b**).

O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Z(NO₂)-*E*- Δ Abu(β -Br)-OMe **E-16b** (0,065 g, 0,175 mmol) para dar *E*-**20b** (0,066 g, 94%).

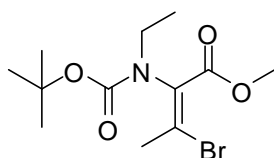
4.11.3. Síntese de Z(NO₂)-*N*(Et)-*Z*- Δ Abu(β -Br)-OMe (composto *Z*-**20b**).

O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Z(NO₂)-*Z*- Δ Abu(β -Br)-OMe **Z-16b** (0,039 g, 0,105 mmol) para dar *Z*-**20b** (0,035 g, 82%).

4.11.4. Síntese de *Z*-*N*(Et)-*Z*- Δ Abu(β -Br)-OMe (composto *Z*-**20c**).

O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente *Z*-*Z*- Δ Abu(β -Br)-OMe **Z-16c** (0,033 g, 0,100 mmol) para obter *Z*-**20c** (0,031 g, 86%).

4.11.5. Síntese de Boc-*N*(Et)-*E*- Δ Abu(β -Br)-OMe (composto *E*-**20d**).



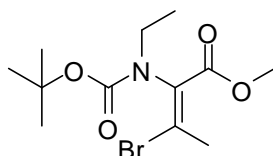
O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Boc-*E*- Δ Abu(β -Br)-OMe **E-16d** (0,221 g, 0,750 mmol) para obter *E*-**20d** (0,215 g, 89%) como um óleo incolor que resistiu a recristalizar.

δ_{H} (400MHz, CDCl₃) (rotômeros) 1,00-1,21 (m, 3H, CH₂CH₃), 1,39-1,48 (m, 9H, CH₃ Boc), 2,40 (s, 3H, γ CH₃), 3,40 (q. l., $J = 7,2$ Hz, 2H, CH₂CH₃), 3,75, 3,77 (2s, 3H, CH₃ OMe) ppm.

δ_C (100,6MHz, $CDCl_3$) (rotômeros) 12,98, 13,47 (CH_3), 26,80 (γCH_3), 28,22 [$C(CH_3)_3$], 43,36 (CH_2), 52,01, 52,78 (OCH_3), 80,16, 80,72 [$OC(CH_3)_3$], 130,40 (C), 130,53 (C), 153,78 (C=O), 164,49 (C=O) ppm.

HRMS (ESI) calculado para $C_{12}H_{20}NNaO_4Br$ 344,04734; encontrado 344,04692.

4.11.6. Síntese de Boc-N(Et)-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe (composto Z-20d).



O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Boc-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe Z-**16d** (0,147 g, 0,500 mmol) para obter Z-**20d** (0,137 g, 85%) como um óleo incolor que não recristalizou.

δ_H (400MHz, $CDCl_3$) (rotômeros) 1,15, 1,17 (2t, $J = 7,2$ Hz, $J = 7,2$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 1,39 (s, 9H, CH_3 Boc), 2,79 (s, 3H, γCH_3), 3,40 (q. l., $J = 7,2$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 3,75 (s, 3H, CH_3 OMe) ppm.

δ_C (100,6MHz, $CDCl_3$) (rotômeros) 13,00, 13,67 (CH_3), 26,52 (γCH_3), 27,84, 28,16 [$C(CH_3)_3$], 42,99, 44,35 (CH_2), 52,06, 52,18 (OCH_3), 80,22, 80,62 [$OC(CH_3)_3$], 130,91, 131,60 (C), 140,10, 140,72 (C), 153,60, 154,15 (C=O), 164,03, 164,23 (C=O) ppm.

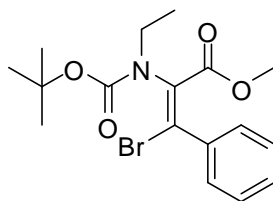
HRMS (ESI) calculada para $C_{12}H_{20}NNaO_4Br$ 344,04734; encontrada 344,04679.

4.11.7. Síntese de Z(NO₂)-N(Et)-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe (composto Z-21b).

O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Z(NO₂)-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe Z-**17b** (0,131 g, 0,300 mmol) para obter Z-**21b** (0,133 g, 96%).

4.11.8. Síntese de Z-N(Et)-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe (composto Z-21c).

O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Z-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe Z-**17c** (0,079 g, 0,203 mmol) para dar Z-**21c** (0,069 g, 82%).

4.11.9. Síntese de Boc-*N*(Et)-*Z*- Δ Phe(β -Br)-OMe (composto *Z*-21d).

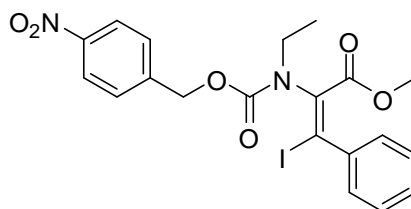
O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Boc-*Z*- Δ Phe(β -Br)-OMe *Z*-17d (0,178 g, 0,500 mmol) para obter *Z*-21d (0,170 g, 88%) como um óleo amarelo.

p.f. = 59,0-60,0°C (a partir de acetato de etilo/*n*-hexano)

δ_H (400MHz, CDCl₃) (rotômeros) 1,28 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H, CH₂CH₃), 1,45, 1,52 (2s, 9H, CH₃ Boc), 3,44, 3,48 (2s, 3H, CH₃ OMe), 3,63 (q, *J* = 7,5 Hz, 2H, CH₂CH₃), 7,32-7,36 (m, 5H, ArH) ppm.

δ_C (100,6MHz, CDCl₃) (rotômeros) 13,29, 13,99 (CH₃), 28,16 [C(CH₃)₃], 42,50, 44,19 (CH₂), 51,95 (OCH₃), 80,83, 81,17 [OC(CH₃)₃], 128,16 (CH), 128,22 (CH), 129,42 (CH), 132,29 (C), 135,66 (C), 139,18 (C), 153,37 (C=O), 164,66 (C=O) ppm.

Análise elementar calculada para C₁₇H₂₂NO₄Br (384,26) C 53,14, H 5,77; N 3,65. Determinada C 53,29; H 5,77; N 3,86.

4.11.10. Síntese de Z(NO₂)-*N*(Et)-*Z*- Δ Phe(β -I)-OMe (composto *Z*-22b).

O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Z(NO₂)-*Z*- Δ Phe(β -I)-OMe *Z*-18b (0,121 g, 0,250 mmol) para dar *Z*-22b (0,121 g, 95%) como um sólido amarelo claro.

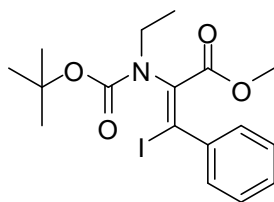
p.f. = 134,0-135,0°C (a partir de acetato de etilo/*n*-hexano)

δ_{H} (300MHz, CDCl_3) (rotômeros) 1,35 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 3,40, 3,43 (2s, 3H, CH_3 OMe), 3,68-3,73 (m, 2H, CH_2CH_3), 5,30, 5,35 [2s, 2H, CH_2 Z(NO_2)], 7,26-7,34 (m, 5H, ArH), 7,53 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, ArH), 8,21 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, ArH) ppm.

δ_{C} (75,4MHz, CDCl_3) (rotômeros) 13,15 (CH_3), 44,16, 44,63 (CH_2), 52,25, 53,68 (OCH_3), 66,18 [CH_2 Z(NO_2)], 123,65, 123,79 (CH), 127,53, 127,76 (CH), 127,93, 128,06 (CH), 128,21 (CH), 129,20, 129,36 (CH), 136,20 (C), 142,13 (C), 142,16 (C), 143,71 (C), 147,51 (C), 153,71 ($\text{C}=\text{O}$), 162,82 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

Análise elementar calculada para $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_6\text{I}$ (510,28) C 47,08; H 3,75; N 5,49. Determinada C 46,83; H 4,00, N 5,49.

4.11.11. Síntese de Boc-*N*(Et)-*Z*- Δ Phe(β -I)-OMe (composto **Z-22d**).



O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Boc-*Z*- Δ Phe(β -I)-OMe **Z-18d** (0,133 g, 0,328 mmol) para obter **Z-22d** (0,134 g, 95%) como um óleo laranja claro.

p.f. = 69,5-70,0°C (a partir de éter dietílico/*n*-hexano)

δ_{H} (400MHz, CDCl_3) (rotômeros) 1,30 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 1,48, 1,53 (2s, 9H, CH_3 Boc), 3,46 (s, 3H, CH_3 OMe), 3,61 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 7,27-7,35 (m, 5H, ArH) ppm.

δ_{C} (100,6MHz, CDCl_3) (rotômeros) 13,36, 14,08 (CH_3), 28,24, 28,35 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 42,89, 44,76 (CH_2), 51,97 (OCH_3), 81,17 [$\text{OC}(\text{CH}_3)_3$], 117,61 (C), 127,62 (CH), 127,97, 128,10 (CH), 128,94 (CH), 137,16 (C), 142,72 (C), 153,25 ($\text{C}=\text{O}$), 163,18 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

Análise elementar calculada para $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{NO}_4\text{I}$ (431,27) C 47,34; H 5,14; N 3,25. Determinada C 47,65; H 5,27; N 3,50.

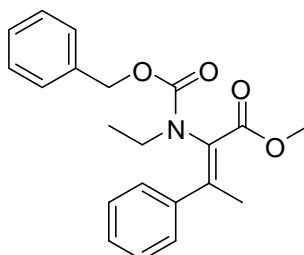
4.12. Acoplamento de Suzuki do ácido fenilborónico com os esteres metílicos *N*-acil, *N*-etil β -bromo α,β -desidroaminoácidos.

Procedimento geral:

A uma solução de éster metílico de *N*-acil, *N*-etil β -bromo desidroaminoácido em THF/H₂O (1:1) adicionou-se o ácido fenilborónico (1,5 equiv.), PdCl₂dppf·CH₂Cl₂ (1:1) (10 mol%) e CsCO₃ (1,4 equiv.). Aqueceu-se a mistura reaccional até 90°C; a reacção foi seguida por TLC até todo derivado *N*-etil β -bromado do desidroaminoácido fosse consumido (1-3 h). Evaporou-se o solvente e dissolveu-se o resíduo obtido em acetato de etilo (100 cm³). A fase orgânica foi, sucessivamente, lavada com água e uma solução saturada de NaCl (2x30 cm³ cada) e depois seca sobre MgSO₄ anidro. Da evaporação do solvente obteve-se um resíduo que foi submetido a uma cromatografia em coluna usando como eluente éter dietílico/éter de petróleo.

Nosil-*N*(Et)- Δ Phe(β -C₆H₅)-OMe **24a**.^[69]

4.12.1. Síntese de *Z*-*N*(Et)-*Z*- Δ Abu(β -C₆H₅)-OMe (composto *Z*-23c).



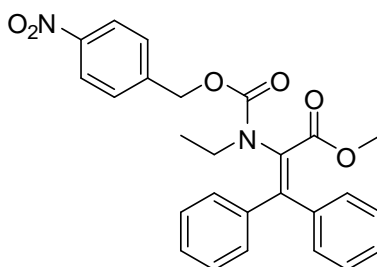
O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente *Z*-*N*(Et)- Δ Abu(β -Br)-OMe **Z-20c** (0,122 g, 0,344 mmol) para obter **Z-23c** (0,060 g, 50%) como um óleo incolor.

δ_H (400MHz, CDCl₃) 0,85 (2t, *J* = 7,2 Hz, 3H, CH₂CH₃), 2,46 (2s, 3H, γ CH₃), 3,50?? (s. l., 2H, CH₂CH₃), 3,53, 3,78 (2s, 3H, CH₃ OMe), 5,18, 5,30 (2s, 2H, CH₂ Z), 7,28-7,39 (m, 10H, ArH) ppm.

δ_C (100,6MHz, CDCl₃) 12,53, 13,32 (CH₃), 21,66 (γ CH₃), 44,53 (CH₂), 51,59 (OCH₃), 67,07, 67,18 (CH₂ Z), 126,83 (CH), 127,68 (CH), 127,84 (CH), 128,03 (CH), 128,35 (CH), 128,44 (CH), 136,67 (C), 141,18 (C), 148,07 (C), 155,65 (C), 155,65, 156,31 (C=O), 166,28, 166,43 (C=O) ppm.

HRMS (ESI) calculada para $C_{21}H_{23}NNaO_4$ 376,15248; encontrada 376,15193.

4.12.2. Síntese de Z(NO₂)-N(Et)-ΔPhe(β-C₆H₅)-OMe (composto 24b).



O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagentes Z(NO₂)-N(Et)-ΔAla(β,β-Br)-OMe **19b** (0,093 g, 0,200 mmol) e 3,0 equiv. do ácido fenilborônico para obter **24b** (0,075 g, 81%) como um óleo incolor.

p.f. = 92,0-93,0°C (a partir de éter dietílico/*n*-hexano)

δ_H (400MHz, CDCl₃) 1,00 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H, CH₂CH₃), 3,04 (m. l., 2H, CH₂CH₃), 3,32, 3,34 (2s, 3H, CH₃ OMe), 5,26, 5,31 [2s, 2H, CH₂ Z(NO₂)], 7,06-7,11 (m, 4H, ArH), 7,34-7,37 (m, 6H, ArH), 7,58 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, ArH), 8,22 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, ArH) ppm.

δ_C (100,6MHz, CDCl₃) 12,79, 13,59 (CH₃), 43,37, 43,64 (CH₂), 51,47, 51,58 (OCH₃), 65,60, 65,87 [CH₂ Z(NO₂)], 123,53 (CH), 127,94 (CH), 128,06 (CH), 128,18 (CH), 128,51 (CH), 128,67 (CH), 128,83 (CH), 129,01 (CH), 139,19 (C), 139,84 (C), 143,94 (C), 144,39 (C), 145,84 (C), 147,12 (C), 154,29, 155,08 (C=O), 166,31, 166,89 (C=O) ppm.

Análise elementar calculada para C₂₆H₂₄N₂O₆ (460,48) C 67,82; H 5,25; N 6,08. Determinada C 67,74; H 5,27; N 6,13.

4.12.3. Síntese de Z(NO₂)-N(Et)-ΔPhe(β-C₆H₅)-OMe (composto 24b).

O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Z(NO₂)-N(Et)-Z-ΔPhe(β-Br)-OMe **Z-21b** (0,093 g, 0,200 mmol) para obter **24b** (0,058 g, 63%).

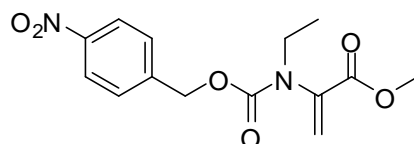
4.13. Síntese dos esteres metílicos de *N*-acil, *N*-etil-desidroaminoácidos.

Procedimento geral:

Dissolveu-se o éster metílico do *N*-acil-desidroaminoácido em diclorometano seco e adicionou-se 3,5 equiv. de *tert*-butoxido de potássio e 2,5 equiv. de tetrafluoroborato de trietiloxônio sob atmosfera inerte. A mistura reaccional ficou em agitação, à temperatura ambiente, durante 30 min. De seguida adicionou-se diclorometano (50 cm³) e lavou-se a fase orgânica com água e uma solução saturada de NaCl (3x25 cm³ cada). Depois de seca sobre MgSO₄ anidro, evaporou-se o solvente e obteve-se o correspondente éster metílico do *N*-acil, *N*-etil-desidroaminoácido.

Tos-*N*(Et)-Z-ΔAbu-OMe Z-**26e**; ^[77] Tos-*N*(Et)-Z-ΔPhe-OMe Z-**27e**. ^[77]

4.13.1. Síntese de Z(NO₂)-*N*(Et)-ΔAla-OMe (composto **25b**).



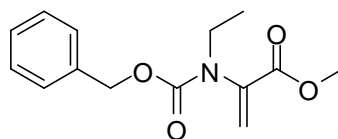
O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Z(NO₂)-ΔAla-OMe **6b** (0,211 g, 0,750 mmol) para dar **25b** (0,204 g, 88%) como um óleo laranja que resistiu a recrystalizar.

δ_H (400MHz, CDCl₃) 1,19 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H, CH₂CH₃), 3,60 (q, *J* = 6,9 Hz, 2H, CH₂CH₃), 3,72 (s, 3H, CH₃ OMe), 5,21 [s, 2H, CH₂ Z(NO₂)], 5,63 (s, 1H, βCH₂), 6,19 (s, 1H, βCH₂), 7,46 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H, ArH), 8,20 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H, ArH) ppm

δ_C (100,6MHz, CDCl₃) 13,39 (CH₃), 45,02 (CH₂), 52,44 (OCH₃), 65,94 [CH₂ Z(NO₂)], 121,61 (βCH₂), 123,67 (CH), 127,90 (CH), 138,68 (αC), 143,66 (C), 147,53 (C), 154,19 (C=O), 164,66 (C=O) ppm

Análise elementar calculada para C₁₄H₁₆N₂O₆ (308,29) C 54,54; H 5,23; N 9,09. Determinada C 54,43, H 5,13; N 9,11.

HRMS (ESI) calculada para C₁₄H₁₆N₂NaO₆ 331,09060; encontrada 331,09006.

4.13.2. Síntese de Z-N(Et)- Δ Ala-OMe (composto 25c).

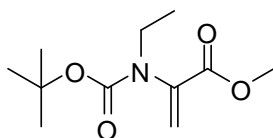
O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Z- Δ Ala-OMe **6c** (0,118 g, 0,500 mmol) para obter **25c** (0,119 g, 91%) como um óleo incolor.

δ_H (300MHz, $CDCl_3$) (rotômeros) 1,18 (t, $J = 6,9$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 3,60 (q, $J = 6,9$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 3,63, 3,87 (2s, 3H, CH_3 OMe), 5,13 (s, 2H, CH_2 Z), 5,54 (s, 1H, βCH_2), 6,09 (s, 1H, βCH_2), 7,29-7,35 (m, 5H, ArH) ppm.

δ_C (75,4MHz, $CDCl_3$) (rotômeros) 13,43, 13,93 (CH_3), 44,77 (CH_2), 52,21, 52,94 (OCH_3), 66,45, 67,39 (CH_2 Z), 120,06 (βCH_2), 127,85 (CH), 127,96 (CH), 128,36 (CH), 136,18, 136,63 (C), 139,06 (αC), 154,60 (C=O), 164,90 (C=O) ppm.

Análise elementar calculada para $C_{14}H_{17}NO_4$ (263,29) C 63,87; H 6,51; N 5,23. Determinada C 63,30; H 6,46; N 5,63.

HRMS (ESI) calculada para $C_{14}H_{17}NNaO_4$ 286,10553; encontrada 286,10537.

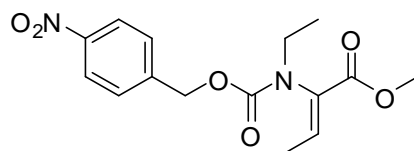
4.13.3. Síntese de Boc-N(Et)- Δ Ala-OMe (composto 25d).

O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Boc- Δ Ala-OMe **6d** (0,090 g, 0,450 mmol) para obter **25d** (0,078 g, 75%) como um óleo incolor.

δ_H (300MHz, $CDCl_3$) (rotômeros) 1,17 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 1,43 (s, 9H, CH_3 Boc), 3,54 (q. l., $J = 6,9$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 3,78, 3,88 (2s, 3H, CH_3 OMe), 5,40 (s, 1H, βCH), 5,91, 5,93 (2s, 1H, βCH) ppm.

δ_C (75,4MHz, $CDCl_3$) (rotômeros) 13,47, 14,09 (CH_3), 28,16, 28,38 [$C(CH_3)_3$], 44,32 (CH_2), 52,15, 52,98 (OCH_3), 80,67, 80,77 [$OC(CH_3)_3$], 116,96, 117,20 (βCH_2), 139,94 (αC), 161,14 (C=O), 165,61 (C=O) ppm.

HRMS (ESI) calculada para $C_{11}H_{19}NNaO_4$ 252,12118; encontrada 252,12063.

4.13.4. Síntese de Z(NO₂)-N(Et)-Z-ΔAbu-OMe (composto Z-26b).

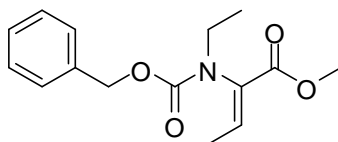
O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Z(NO₂)-Z-ΔAbu-OMe (**Z-7b**) (0,221 g, 0,750 mmol) para obter **Z-26b** (0,217 g, 90%) como um óleo que resistiu a recrystalizar.

δ_H (400MHz, CDCl₃) (rotômeros) 1,14 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H, CH₂CH₃), 1,81 (d, $J = 7,2$ Hz, 3H, γ CH₃), 3,51 (q. l., $J = 7,2$ Hz, 2H, CH₂CH₃), 3,73, 3,77 (2s, 3H, CH₃ OMe), 5,19, 5,30 [s. l. + s, 2H, CH₂ Z(NO₂)], 7,00, 7,04 (2q, $J = 7,2$ Hz e $J = 7,2$ Hz, 1H, β CH), 7,42, 7,55 (2d, $J = 8,8$ Hz e $J = 8,8$ Hz, 2H, ArH), 8,20, 8,24 (2d, $J = 8,8$ Hz e $J = 8,8$ Hz, 2H, ArH) ppm.

δ_C (100,6MHz, CDCl₃) (rotômeros) 12,94 (CH₃), 13,76, 13,91 (γ CH₃), 44,08 (CH₂), 52,20 (OCH₃), 65,68, 65,89 [CH₂ Z(NO₂)], 123,64, 123,77 (CH), 127,73, 127,92 (CH), 131,59, 131,96 (C), 138,40, 139,07 (β CH), 144,00, 144,09 (C), 147,46 (C), 154,56, 154,75 (C=O), 164,54, 164,87 (C=O) ppm.

Análise elementar calculada para C₁₅H₁₈N₂O₆ (322,31) C 55,90; H 5,63; N 8,69. Determinada C 55,82; H 5,41; N 8,65.

HRMS (ESI) calculada para C₁₅H₁₉N₂O₆ [M+H]⁺ 323,12431; encontrada 323,12432.

4.13.5. Síntese de Z-N(Et)-Z-ΔAbu-OMe (composto Z-26c).

O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Z-Z-ΔAbu-OMe (**Z-7c**) (0,125 g, 0,500 mmol) para dar **Z-26c** (0,099 g, 72%) como um óleo incolor.

δ_H (400MHz, CDCl₃) (rotômeros) 1,13 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H, CH₂CH₃), 1,76, 1,80 (2d, $J = 7,2$ Hz e $J = 7,2$ Hz, 3H, γ CH₃), 3,46-3,50 (m, 2H, CH₂CH₃), 3,66, 3,77 (2s, 3H, CH₃

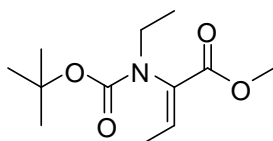
OMe), 5,11, 5,21 (2s, 2H, CH₂ Z), 6,93, 7,02 (2q, $J = 7,2$ Hz e $J = 7,2$ Hz, 1H, β CH), 7,28-7,39 (m, 5H, ArH) ppm.

δ_C (100,6MHz, CDCl₃) (rotómeros) 13,00 (CH₃), 13,83, 13,92 (γ CH₃), 43,80, 43,91 (CH₂), 52,02, 52,11 (OCH₃), 67,10, 67,36 (CH₂ Z), 127,66, 127,76 (CH), 127,82, 127,96 (CH), 128,33, 128,46 (CH), 131,77, 132,19 (C), 139,30, 136,66 (C), 138,01, 138,81 (β CH), 155,01, 155,27 (C=O), 164,82, 165,11 (C=O) ppm.

Análise elementar calculada para C₁₅H₁₉NO₄ (277,32) C 64,97; H 6,91; N 5,05. Determinada C 64,24; H 6,63; N 5,15.

HRMS (ESI) calculada para C₁₅H₁₉NNaO₄ 300,12118; encontrada 300,12063.

4.13.6. Síntese de Boc-N(Et)-Z- Δ Abu-OMe (composto Z-26d).



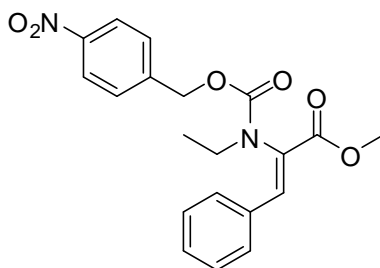
O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Boc-Z- Δ Abu-OMe (Z-7d) (0,294 g, 1,364 mmol) para dar Z-26d (0,304 g, 92%) como um óleo incolor que resistiu a recristalizar.

δ_H (400MHz, CDCl₃) (rotómeros) 1,06 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H, CH₂CH₃), 1,35, 1,46 (2s, 9H, CH₃ Boc), 1,75 (d, $J = 7,2$ Hz, 3H, γ CH₃), 3,32, 3,40 (2q, $J = 7,2$ Hz e $J = 7,2$ Hz, 2H, CH₂CH₃), 3,71, 3,72 (2s, 3H, CH₃ OMe), 6,79, 6,89 (2q, $J = 7,2$ Hz e $J = 7,2$ Hz, 1H, β CH) ppm.

δ_C (100,6MHz, CDCl₃) (rotómeros) 12,99, 13,61 (CH₃), 13,68, 13,81 (γ CH₃), 28,13, 28,25 [C(CH₃)₃], 42,84, 43,99 (CH₂), 51,83, 51,88 (OCH₃), 79,80, 80,08 [OC(CH₃)₃], 132,42, 132,54 (α C), 135,93, 136,17 (β CH), 154,17, 154,38 (C=O), 165,01, 165,45 (C=O) ppm.

Análise elementar calculada para C₁₂H₂₁NO₄ (243,30) C 59,24; H 8,70; N 5,76. Determinada C 59,02; H 8,70; N 5,71.

HRMS (ESI) calculada para C₁₂H₂₁NNaO₄ 266,13683; encontrada 266,13655.

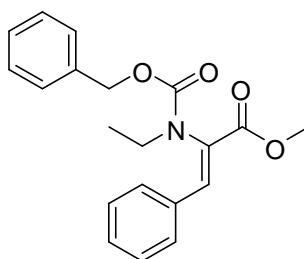
4.13.7. Síntese de Z(NO₂)-N(Et)-Z-ΔPhe-OMe (composto Z-27b).

O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Z(NO₂)-Z-ΔPhe-OMe (**Z-8b**) (0,270 g, 0,758 mmol) para obter **Z-27b** (0,283 g, 97%) como um óleo amarelo claro que resistiu a recristalizar.

δ_{H} (400MHz, CDCl₃) (rotômeros) 1,10, 1,21 (2t, $J = 7,2$ Hz e $J = 7,2$ Hz, 3H, CH₂CH₃), 3,29, 3,47, 3,72 (3s. l., 2H, CH₂CH₃), 3,79, 3,85 (2s, 3H, CH₃ OMe), 5,21, 5,37 [s. l. + s, 2H, CH₂ Z(NO₂)], 7,34-7,58 (m, 8H, ArH + β CH), 8,12, 8,26 [2d, $J = 8,8$ Hz e $J = 8,8$ Hz, 2H, Z(NO₂)] ppm.

δ_{C} (100,6MHz, CDCl₃) (rotômeros) 12,76, 13,57 (CH₃), 43,83, 44,16 (CH₂), 52,53, 52,55 (OCH₃), 65,90, 66,02 [CH₂ Z(NO₂)], 123,57, 123,78 (CH), 127,89, 127,99 (CH), 128,73, 128,92 (CH), 129,78 (C), 130,04, 130,09 (CH), 130,43 (CH), 132,58, 132,78 (C), 136,43, 136,81 (CH), 143,83, 144,01 (C), 147,45, 147,62 (C), 154,94, 155,15 (C=O), 165,52, 166,01 (C=O) ppm

HRMS (ESI) calculada para C₂₀H₂₁N₂O₆ [M+H]⁺ 385,13996; encontrada 385,13941.

4.13.8. Síntese de Z-N(Et)-Z-ΔPhe-OMe (composto Z-27c).

O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Z-Z-ΔPhe-OMe (**Z-8c**) (0,155 g, 0,500 mmol) para dar **Z-27c** (0,146 g, 86%) como um óleo amarelo.

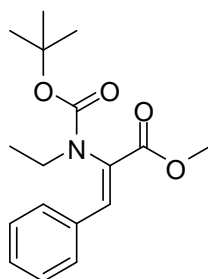
δ_{H} (400MHz, CDCl_3) (rotómeros) 1,07 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 3,24, 3,40 (2s. l., 2H, CH_2CH_3), 3,68, 3,84 (s, 3H, CH_3 OMe), 5,17, 5,28 (s. l. + s, 2H, CH_2 Z), 7,23-7,52 (m, 10H, ArH + βCH), 7,59 (s, 1H, ArH) ppm.

δ_{C} (100,6MHz, CDCl_3) (rotómeros) 12,84, 13,58 (CH_3), 43,55, 44,00 (CH_2), 52,33, 52,47 (OCH_3), 67,37, 67,50 (CH_2 Z), 127,81 (CH), 127,86 (CH), 128,32, 128,50 (CH), 128,78 (CH), 129,86 (CH), 130,01 (CH), 130,06 (C), 132,84, 132,94 (C), 135,66 (CH), 136,44, 136,66 (C), 155,52, 155,57 ($\text{C}=\text{O}$), 165,81, 166,24 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

Análise elementar calculada para $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{NO}_4$ (339,39) C 70,78; H 6,24; N 4,13. Determinada C 70,02; H 5,99; N 4,25.

HRMS (ESI) calculada para $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{NNaO}_4$ 362,13683; encontrada 362,13628.

4.13.9. Síntese de Boc-N(Et)-Z- Δ Phe-OMe (composto Z-27d).



O procedimento geral descrito acima foi seguido usando, como reagente Boc-Z- Δ Phe-OMe (Z-8d) (0,206 g, 0,750 mmol) para obter Z-27d (0,208 g, 92%) como um óleo amarelo claro que resistiu a recrystalizar.

δ_{H} (400MHz, CDCl_3) (rotómeros) 1,04 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 1,40, 1,54 (2s, 9H, CH_3 Boc), 3,10, 3,30, 3,67 (3s. l., 2H, CH_2CH_3), 3,83 (s, 3H, CH_3 OMe), 7,36-7,39 (m, 4H, ArH + βCH), 7,50-7,53 (m, 2H, ArH) ppm.

δ_{C} (100,6MHz, CDCl_3) (rotómeros) 12,94, 13,54 (CH_3), 28,17, 28,37 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 42,53, 44,11 (CH_2), 52,24, 52,31 (OCH_3), 80,44, 80,60 [$\text{OC}(\text{CH}_3)_3$], 128,57, 128,71 (CH), 129,63, 129,73 (CH), 129,87, 129,95 (CH), 130,68 (C), 133,23, 133,28 (C), 133,99 (CH), 154,56, 154,78 ($\text{C}=\text{O}$), 166,11, 166,68 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

Análise elementar calculada para $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_4$ (305,37) C 66,86; H 7,59; N 4,59. Determinada C 66,26; H 7,36; N 4,77.

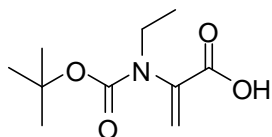
HRMS (ESI) calculada para $C_{17}H_{23}NNaO_4$ 328,15248; encontrada 328,15193.

4.14. Saponificação de esteres metílicos de *N*-acil, *N*-etil-desidroaminoácidos.

Procedimento geral:

Dissolveu-se o éster metílico do *N*-etil-desidroaminoácido em dioxano ($0,2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) e adicionou-se 3 cm^3 de NaOH ($1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$). A solução ficou em agitação a temperatura ambiente durante 2 horas, de seguida acidificou-se até pH 2-3 com uma solução de KHSO_4 ($1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) e extraiu-se com acetato de etilo ($5 \times 10 \text{ cm}^3$). Evaporou-se os extractos orgânicos recolhidos, secos sobre MgSO_4 anidro.

4.14.1. Síntese de Boc-*N*(Et)- Δ Ala-OH (composto **28d**).



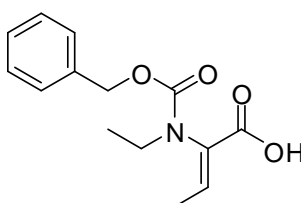
O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Boc-*N*(Et)- Δ Ala-OMe **25d** (0,134 g, 0,587 mmol) para obter **28d** (0,115 g, 91%) como um óleo amarelo claro que não recristalizou.

δ_H (400MHz, CDCl_3) 1,18 (t, $J = 7,2 \text{ Hz}$, 3H, CH_2CH_3), 1,44 (s, 9H, CH_3 Boc), 3,56 (q, $J = 6,9 \text{ Hz}$, 2H, CH_2CH_3), 5,53 (s, 1H, βCH), 6,07 (s, 1H, βCH) ppm.

δ_C (100,6MHz, CDCl_3) 15,10 (CH_3), 28,36 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 44,29 (CH_2), 81,25 [$\text{OC}(\text{CH}_3)_3$], 118,90 (βCH_2), 139,53 (αC), 156,33 ($\text{C}=\text{O}$), 169,13 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

HRMS (ESI) calculada para $C_{10}H_{17}NO_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 216,12356; encontrada 216,12374

4.14.2. Síntese de *Z*-*N*(Et)-*Z*- Δ Abu-OH (composto **Z-29c**).



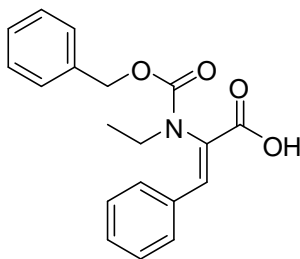
O procedimento geral descrito acima foi seguido usando como reagente Z-*N*(Et)-Z- Δ Abu-OMe Z-**26c** (0,277 g, 1,000 mmol) para obter Z-**29c** (0,249 g, 95%) como um óleo amarelo que resistiu a recrystalizar.

δ_H (400MHz, CDCl₃) (rotómeros) 1,15 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H, CH₂CH₃), 1,79 (d, $J = 7,2$ Hz, 3H, γ CH₃), 3,50 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H, CH₂CH₃), 5,11 (s. l., 2H, CH₂ Z), 7,08 (q, $J = 7,2$ Hz, 1H, β CH), 7,25-7,40 (m, 5H, ArH) ppm.

δ_C (100,6MHz, CDCl₃) 13,03 (CH₃), 14,10 (γ CH₃), 43,75 (CH₂), 67,27 (CH₂ Z), 127,57 (CH), 127,81 (CH), 128,34 (CH), 131,28 (C), 136,53 (C), 140,67 (β CH), 155,24 (C=O), 169,36 (C=O) ppm.

HRMS (ESI) calculada para C₁₄H₁₇NO₄ [M+H]⁺ 264,12358; encontrada 264,12332.

4.14.3. Síntese de Z-*N*(Et)-Z- Δ Phe-OH (composto Z-**30c**).



O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Z-*N*(Et)-Z- Δ Phe-OMe Z-**27c** (0,339 g, 1,000 mmol) para obter Z-**30c** (0,307 g, 94%) como um óleo amarelo claro que resistiu a recrystalizar.

δ_H (400MHz, CDCl₃) (rotómeros) 1,11 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H, CH₂CH₃), 3,26, 3,46 (2s. l., 2H, CH₂CH₃), 5,16 (s, 2H, CH₂ Z), 7,23-7,25 (m, 3H, ArH), 7,36-7,41 (m, 4H, ArH), 7,52-7,56 (m, 3H, ArH) 7,64 (s, 1H, β CH) ppm.

δ_C (100,6MHz, CDCl₃) 12,89 (CH₃), 43,58 (CH₂), 67,54 (CH₂ Z), 127,62 (CH), 127,79 (CH), 128,30 (CH), 128,40 (C), 128,77 (CH), 128,87 (CH), 130,27 (CH), 132,57 (C), 136,32 (C), 137,75 (CH), 155,52 (C=O), 170,63 (C=O) ppm.

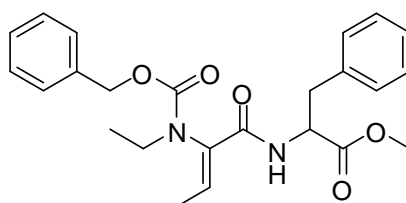
HRMS (ESI) calculada para C₁₉H₁₉NO₄ [M+H]⁺ 326,13923; encontrada 326,13868.

4.15. Síntese de esteres metílicos de *N*-acil, *N*-etil-desidro-dipéptidos.

Procedimento geral:

Dissolveu-se o *N*-acil, *N*-etil-desidro-aminoácido em acetonitrilo ($0,05 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) e adicionou-se 1,0 equiv. de HOBT, 1,1 equiv. de DCC, 1,0 equiv. de HCl, *H*-*L*-Phe-OMe e 1,0 equiv. de trietilamina em banho de gelo. Após 16 horas de agitação a temperatura ambiente, filtrou-se a mistura reaccional e evaporou-se o solvente. Dissolveu-se o resíduo em acetato de etilo (100 cm^3) e lavou-se com uma solução de KHSO_4 ($1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$), uma solução de NaHCO_3 ($1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) e uma solução saturada de NaCl ($3 \times 30 \text{ cm}^3$ cada). A fase orgânica foi seca sobre MgSO_4 anidro e evaporou-se o solvente.

4.15.1. Síntese de *Z*-*N*(Et)-*Z*- Δ Abu-*L*-Phe-OMe (composto **31c**).



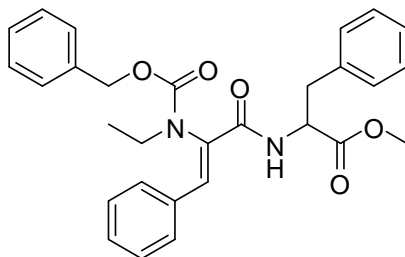
O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente *Z*-*N*(Et)-*Z*- Δ Abu-OH **Z-29c** (0,165 g, 0,629 mmol) para obter **31c** (0,233 g, 87%) como um óleo incolor que resistiu a recristalizar.

δ_{H} (400MHz, CDCl_3) 1,02 (s. l., 3H, CH_2CH_3), 1,62 (d, $J = 7,2 \text{ Hz}$, 3H, γCH_3), 3,07-3,40 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{CH}_3 + \beta\text{CH}_2$), 3,71 (s, 3H, $\text{CH}_3 \text{ OMe}$), 4,85-5,20 (m, 3H, $\text{CH}_2 \text{ Z} + \alpha\text{CH}$), 6,33 (d, $J = 7,2 \text{ Hz}$, 1H, NH), 6,87 (q, $J = 7,2 \text{ Hz}$, 1H, βCH), 6,99-7,35 (m, 10H, ArH), 7,49 (s, 1H, βCH) ppm.

δ_{C} (100,6MHz, CDCl_3) 12,91 (CH_3), 14,10 (γCH_3), 37,52 (βCH_2), 43,69 (CH_2), 52,29 (OCH_3), 53,48 (αCH), 67,62 ($\text{CH}_2 \text{ Z}$), 127,22 (CH), 127,90 (CH), 128,02 (CH), 128,35 (CH), 128,69 (C), 129,53 (CH), 129,64 (CH), 132,91 (CH), 135,51 (C), 136,04 (C), 155,16 (C=O), 164,95 (C=O), 171,60 (C=O) ppm.

HRMS (ESI) calculada para $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 425,20765; encontrada 425,20710.

4.15.2. Síntese de Z-N(Et)-Z-ΔPhe-L-Phe-OMe (composto 32c).



O procedimento geral descrito acima foi seguido, usando como reagente Z-N(Et)-Z-ΔPhe-OH Z-**30c** (0,321 g, 0,988 mmol) para dar **32c** (0,386 g, 80%) como um óleo amarelo claro que resistiu a recrystalizar.

δ_H (400MHz, $CDCl_3$) 0,95 (s. l., 3H, CH_2CH_3), 2,95-3,21 (m, 4H, CH_2CH_3 + βCH_2), 3,71 (s, 3H, CH_3 OMe), 4,82-5,30 (m, 3H, CH_2 Z + αCH), 6,46 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H, NH), 7,01-7,32 (m, 15H, ArH), 7,49 (s, 1 H, βCH) ppm.

δ_C (100,6MHz, $CDCl_3$) 13,07 (CH_3), 37,52 (βCH_2), 43,68 (CH_2), 52,29 (OCH_3), 53,48 (αCH), 67,62 (CH_2 Z), 127,22 (CH), 127,90 (CH), 128,02 (CH), 128,35 (CH), 128,69 (C), 128,78 (CH), 129,09 (CH), 129,43 (CH), 129,53 (CH), 129,64 (CH), 131,25 (C), 132,91 (CH), 135,51 (C), 136,04 (C), 155,16 (C=O), 164,95 (C=O), 171,60 (C=O) ppm.

HRMS (ESI) calculada para $C_{29}H_{30}N_2O_5$ $[M+H]^+$ 487,22330; encontrada 487,22309.

Bibliografia

1. Kreil, G., *J. Biol. Chem.*, **1994**, 269, 10967.
2. (a) Meyer, C. E.; Reusser, F., *Experientia*, **1967**, 23, 85. (b) Bodo, B.; Rebuffat, S.; El Hajji, M.; Davoust, D., *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, 107, 6011.
3. Toniolo, C.; Bonora, G. M.; Bavoso, A.; Benedetti, E.; Di Blasio, B.; Pavone, V.; Pedone, C., *Biopolymers*, **1983**, 22, 205.
4. (a) Marshall, G. R.; Clark, J. D.; Dunbar, J. B., Jr.; Smith, G. D.; Zabrocki, J.; Redlinski, A. S.; Leplawy, M. T., *Int. J. Peptide Protein Res.*, **1988**, 32, 544. (b) Marshall, G. R.; Hodgkin, E. E.; Langs, D. A.; Smith, G. D.; Zabrocki, J.; Leplawy, M. T., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1990**, 87, 487. (c) Valle, G.; Crisma, M.; Toniolo, C.; Beisswenger, R.; Rieker, A.; Jung, G., *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 6828. (d) Prasad, B. V. V.; Balaram, P., *Crit. Rev. Biochem.*, **1984**, 16, 307.
5. (a) Toniolo, C.; Crisma, M.; Pegoraro, S.; Valle, G.; Bonora, G. M.; Becker, E. L.; Polinelli, S.; Boesten, W. H. J.; Schoemaker, H. E.; Meijer, E. M.; Kamphuis, J.; Freer, R., *Peptide Res.*, **1991**, 4, 66. (b) Frauer, A.; Mehlführer, M.; Thirring, K.; Bemer, H., *J. Org. Chem.*, **1994**, 59, 4215.
6. Juaristi, E.; Soloshnok, V., *Enantioselective Synthesis of β -Amino Acids*, 2nd Ed.; Wiley & Sons, Hoboken, **2005**.
7. a) Shinozaki, H.; Konishi, S., *Neuropharmacology*, **1974**, 13, 665. b) Evans, R. H.; Francis, A. A.; Hunt, K.; Martin, M. R.; Walkins, J. C., *J. Pharma. Pharmac.*, **1978**, 30, 364.
8. Dunnill, P. M.; Fowde, L., *Phytochemistry*, **1965**, 4, 933.
9. Ikegami F.; Komada Y.; Kobori M.; Hawkins D. R., Murakoshi I., *Phytochemistry*, **1990**, 29, 2507.
10. Schmidt, U.; Hausler, J.; Olher, E.; Poisel, H., *Fortschr. Chem. Org. Naturst.*, **1977**, 37, 251.
11. Noda, K.; Shimohigashi, Y.; Izumiya, N., *The Peptides, Analysis, Synthesis, Biology*; Academic Press: New York, **1983**, 5, 286.

12. (a) Schmidt, U.; Lieberknecht, A.; Wild, J., *Synthesis* **1988**, 159. (b) Nomoto, S.; Sano, A.; Shiba, T., *Tetrahedron Lett.*, **1979**, 20, 521.
13. Mazur, R.H.; Pilipauskas, D. R., *Peptides*, **1982**, Gruyter, W., (Ed.), Berlin, **1983**, 319.
14. Khokhlov, A. S.; Lokshin, G. B., *Tetrahedron Lett.*, **1963**, 1881.
15. Demain, A. L., *In Biosynthesis of Antibiotics*; Snell, J. F., Ed.; Academic Press: London and New York, **1966**; pp 29.
16. Bycroft, B. W., *Nature*, **1969**, 224, 595–597.
17. Jain, R.; Chauhan, V. S., *Biopolymers (Peptide Science)*, **1996**, 40, 105.
18. Inai, Y.; Kurokawa, Y.; Ida, A.; Hirabayashi, T., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1999**, 71, 55.
19. (a) Nakagawa, Y.; Tsuno, T.; Nakajima, K.; Iwai, M.; Kawai, H.; Okawa, K., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1972**, 45, 1162. (b) Sommerfeld, T. L.; Seebach, D., *Helv. Chim. Acta*, **1993**, 76, 1702.
20. Wieland, F.; Ohnacker, G.; Ziegler, W., *Chem. Ber.*, **1957**, 90, 194.
21. Miller, M. J., *J. Org. Chem.*, **1980**, 45, 3131.
22. Wojciechowska, H.; Pawlowicz, R.; Andruszkiewicz, R.; Grzybowska, J. *Tetrahedron Lett.*, **1978**, 19, 4063.
23. Berti, F.; Ebert, C.; Gardossi, L., *Tetrahedron Lett.*, **1992**, 33, 8145.
24. Goodall, K.; Parson, A. F. *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 3259.
25. Kisfaludi, L.; Patty, A.; Low, M., *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.*, **1969**, 59, 159.
26. Nakamura, K.; Isaka, T.; Toshima, H.; Kodaka, M., *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 7221.
27. Shin, C.-G.; Nanjo, K.; Ando, E.; Yoshimura, J., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1974**, 47, 3109.

-
28. Kolasa, T., *Synthesis*, **1983**, 539.
29. Berkowitz, D. B.; Pederson, M. L., *J. Org. Chem.*, **1994**, 5476.
30. Ferreira, P. M. T.; Maia, H. L. S.; Rodrigues, L. M., *Peptides*, 1996; Mayflower Scientific Ltd.; Kingswinford, **1998**; p. 377.
31. Nugent, W. A. PCT Int. Appl. W09616021 (Cl. C07C231/14), US Appl. 340, 781, 17; *Chem. Abs.* **1996**, 143302k.
32. Grehn, L.; Gunnarsson, K.; Ragnarsson, U., *Acta Chem. Scand., Ser. B* , **1986**, 40, 745.
33. (a) Ferreira, P. M. T.; Maia, H. L. S.; Monteiro, L. S., *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 9575. (b) Ferreira, P. M. T.; Maia, H. L. S.; Monteiro, L. S.; Sacramento, J., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1999**, 3697.
34. Sacramento, J. “Síntese de aminoácidos não proteinogénicos com potencial actividade biológica”, *Tese de Doutoramento* **2003**, Departamento de Química, Universidade do Minho.
35. (a) Silva, N. O.; Abreu A. S.; Ferreira, P. M. T.; Queiroz, M. J. R. P., *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44, 3377. (b) Abreu, A. S.; Ferreira, P. M. T.; Monteiro, L. S.; Queiroz, M. J. R. P.; Ferreira, I. C. F. R.; Calhelha, R. C.; Estevinho, L. M., *Tetrahedron*, **2004**, 60, 11821.
36. Ferreira, P. M. T., Monteiro, L. S., Pereira, G., Ribeiro, L., Sacramento, J., Silva, L., *Eur. J. Org. Chem.*, **2007**, 5934.
37. Humphrey, J. M.; Chamberlin, A. R., *Chem. Rev.*, **1997**, 2243.
38. Ebata, M.; Takahashi, Y.; Otsuka, H., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1966**, 39, 2535.
39. Pettit, G.R.; Kamano, Y.; Herald, C.L.; Fujii, Y.; Kizu, H.; Boyd, M. R.; Boettner, F. E.; Doubek, D.L.; Schmidt, J. M.; Chapuis, J.-C.; Michel, C., *Tetrahedron*, **1993**, 49, 9151.
40. Thali, M., *Mol. Med. Today*, **1995**, 287.
-

41. Oka, T.; Yoshimura, N., *Jpn. J. Pharmacol.*, **1996**, *71*, 89.
42. Aurelio, L.; Brownlee, R. T. C.; Hughes, A. B., *Chem. Rev.*, **2004**, *104*, 5823.
43. Shuman, R. T.; Smithwick, E. L.; Frederickson, R. C. A.; Gesellchen, P. D., in: *Peptides: Proceedings of the 7th American Peptide Symposium* (Eds.: D. Rich, E. Gross); Pierce Chemical Co., Rockford, IL, USA, **1981**, p. 617.
44. Hubler, F.; Ruckle, T.; Patiny, L.; Muamba, T.; Guichou, J. F.; Mutter, M.; Wenger, R., *Tetrahedron Lett.*, **2000**, *41*, 7193.
45. Ruckle, T.; Dubray, B.; Hubler, F.; Mutter, M. J., *Pept. Sci.*, **1999**, *5*, 56.
46. (a) Moore, M. L., *Org. React.*, **1949**, *5*, 301. (b) Bow-Man, R. E.; Stroud, H. H., *J. Chem. Soc.*, **1950**, 1342.
47. (a) Emerson, W. S., *Org. React.*, **1948**, *4*, 174. (b) Means, G. E.; Feeney, R. E., *Biochemistry*, **1968**, *7*, 2192.
48. Kanao, S., *J. Pharm. Soc. Jpn.*, **1946**, *66*, 4.
49. Chen, F. M. F.; Benoiton, N. L., *Can. J. Chem.* **1977**, *55*, 1433.
50. McDermott, J. R.; Benoiton, N. L., *Can. J. Chem.*, **1973**, *51*, 1915.
51. Papaioannou, D.; Athanassopoulos, C.; Magafa, V.; Karamanos, N.; Stavropoulos, G.; Napoli, A.; Sindona, G.; Aksnes, D. W.; Francis, G. W., *Acta Chem. Scand.*, **1994**, *48*, 324.
52. Athanassopoulos, C.; Maia, H. L. S.; Monteiro, L. S.; Papaioannou, D., *Peptides 1996: Proceedings of the 24th European Peptide Symposium*, (Eds.: R. Ramage, R. Epton), Mayflower Scientific Ltd., Kingswinford, U. K., **1998**, pp. 219.
53. Burger, K.; Schedel, H., *Monatsh. Chem.*, **2000**, *131*, 1011.
54. Spengler, J.; Burger, K., *Synthesis*, **1998**, 67.
55. Stodulski, M.; Mlynarski, J., *Tetrahedron: Asymmetry*, **2008**, *19*, 970.

-
56. Belsito, E. L.; De Marco, R.; Di Gioia, M. L.; Liguori, A.; Perri, F.; Viscomi, M. C., *Eur. J. Org. Chem.*, **2010**, 4245.
57. Fukuyama, T.; Jow, C. K.; Cheung, M., *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 6373.
58. Di Gioia, M. L.; Leggio, A.; Le Pera, A.; Liguori, A.; Napoli, A.; Siciliano, C.; Sindona, G., *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 7416.
59. Di Gioia, M. L.; Leggio, A.; Liguori, A.; Perri, F., *J. Org. Chem.*, **2007**, 72, 3723.
60. Farooq, O. J., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1998**, 661.
61. Di Gioia, M. L.; Leggio, A.; Liguori, A.; Perri, F.; Siciliano, C.; Viscomi, M. C.; *Amino Acids*, **2010**, 38, 133.
62. Goodman, T.; Moroder, L., in: *Synthesis of Peptides and Peptidomimetics*, Houben-Weyl, Thieme, Stuttgart, Germany, **2003**, vol. E22c, pp. 215.
63. Ferreira, P. M. T.; Maia, H. L. S.; Monteiro, L. S.; Sacramento, J., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1999**, 3697.
64. Ferreira, P. M. T.; Maia, H. L. S.; Monteiro, L. S., *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 14, 2635.
65. Yamada, M.; Nakao, K.; Fukui, T.; Nunami, K-I, *Tetrahedron*, **1996**, 52, 5751.
66. Abreu, A. S.; Castanheira, E. M. S.; Ferreira, P. M. T.; Queiroz, M. J. R. P., *Tetrahedron* **2007**, 63, 2215.
67. Queiroz, M. J. R. P.; Abreu, A. S.; Calhelha, R. C.; Carvalho, M. S. D.; Ferreira, P. M. T., *Tetrahedron*, **2008**, 64, 5139.
68. Monteiro, L. S.; Kołomańska, J.; Soares, A. C., *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 6731.
69. Monteiro, L. S.; Andrade, J. J.; Soares, A. C., *Eur. J. Org. Chem.* DOI: 10.1002/ejoc.201100907.
70. Greenstein, J. P.; Winitz, M., *Chemistry of the Amino Acids*; Wiley: New York, **1961**; Vol. 2.
-

71. Stoll, A.; Petrzilka, T.; *Helv. Chim. Acta*, **1952**, 35, 589.
72. Ferreira, P. M. T.; Monteiro, L. S., Pereira, G., *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 4676.
73. Ferreira, P. M. T.; Maia, H. L. S.; Monteiro, L. S.; Sacramento, J., *J. Chem. Soc. Perkin Trans I* **2001**, 3167.
74. Ferreira, P. M. T.; Monteiro, L. S., Pereira, G., *Amino Acids* **2010**, 39, 499.
75. Silva, N. O.; Abreu, A. S.; Ferreira, P. M. T.; Monteiro, L. S.; Queiroz, M. J. R. P., *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 2524.
76. Queiroz, M. J. R. P., Begouin, A.; Pereira, G.; Ferreira, P. M. T., *Tetrahedron* **2008**, 64, 10714.
77. Monteiro, L. S.; Suárez, A. C. resultados não publicados.